

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

ESCUELA DE BIOANÁLISIS

DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
BIOQUÍMICA CLÍNICA

“FRECUENCIA DE SUBGRUPOS DEL ANTÍGENO A EN DONANTES VOLUNTARIOS QUE
ACUDEN AL “HEMOCENTRO DE LA CRUZ ROJA ECUATORIANA”, AL NORTE DE QUITO
- ECUADOR, 2013”.

KATHERINE JEANNETH PARRA JARAMILLO

DIRECTORA: MST. ROSA CHIRIBOGA PONCE.

QUITO, 2014

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, KATHERINE JEANNETH PARRA JARAMILLO, C.I. 171918386-3; autora del trabajo de graduación intitulado: “FRECUENCIA DE SUBGRUPOS DEL ANTÍGENO A EN DONANTES VOLUNTARIOS QUE ACUDEN AL “HEMOCENTRO NACIONAL DE LA CRUZ ROJA ECUATORIANA”, AL NORTE DE QUITO - ECUADOR, 2013”, previa a la obtención del grado académico de BIOQUÍMICA CLÍNICA en la Escuela de Bioanálisis:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.



KATHERINE JEANNETH PARRA JARAMILLO C.I. 171918386-3

DEDICATORIA

A mis padres quienes me han brindado la herencia más valiosa e importante de mi vida, mi profesión, sé que de ella los haré orgullosos, levantando con honor el negocio que dejarán en mis manos.

A mi esposo Jaime Eduardo Sojo Lafaurie quien nunca dudo de mí, de mi coraje, fortalezas e inteligencia, siempre dándome los mejores consejos de vida y mostrando lo positivo de cada acto.

Katherine Parra Jaramillo

AGRADECIMIENTOS

A Dios, quien cada día me ha llenado de bendición solo con el único milagro de darme la vida y la oportunidad de disfrutarla al máximo.

A mis padres, ya que gracias a su aporte no solo económico sino sentimental y moral lograron formar en mí una mujer dedicada y responsable, soñadora pero decidida, cualidades que me han llevado a ser lo que actualmente soy.

A mi directora de la disertación Rosita Chiriboga Ponce, quien con tanta dedicación, consejos y esfuerzo, logró que a poco tiempo de mi egreso, me dedique a la realización de mi tesis, con el fin de graduarme y seguir adelante con mis sueños y vida futura, no solo le agradezco por su colaboración sino por ser esa excelente calidad de profesora llena de virtudes y cualidades que para mí la hacen una de las mejores. Gracias Rosita por ser una increíble profesora y amiga.

Al Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana sede Carapungo: su director y personal, gracias por su colaboración y paciencia en el tiempo en el que estuve recolectando las muestras para mi disertación.

A un gran estadístico y amigo de la facultad de Biología, el Ing. Julio Sánchez, quién me brindó una guía en la realización de los cálculos de mi disertación, siempre pensando en ayudar a los estudiantes sin esperar nada a cambio, es un gran profesor y ejemplo de docencia.

Katherine Parra Jaramillo

RESUMEN

“Frecuencia de subgrupos del antígeno A en donantes voluntarios que acuden al Hemocentro Nacional de la Cruz Roja Ecuatoriana”, al norte de Quito - Ecuador, 2013”

Introducción.- La presencia de variantes débiles del grupo sanguíneo A representan un desafío en la práctica de inmunohematología por las discrepancias en el momento de la tipificación, es común en bancos de sangre realizar una tipificación directa e inversa con el objetivo de confirmar el grupo sanguíneo; sin embargo no todas las personas que presentan un subgrupo A2 han desarrollado anticuerpos anti-A1, por lo que es difícil su detección. En la literatura existen reportes de aloinmunización en pacientes de subgrupos A que recibieron trasplantes renales o de células madres de un grupo sanguíneo diferente y desarrollaron varios grados de hemólisis; así también existe estudios sobre enfermedad hemolítica del recién nacido producido en madres de tipo sanguíneo A2 con hijos A1. **Materiales y Métodos.-** Estudio descriptivo que establece la proporción de los subgrupos del antígeno A en el Hemocentro norte de la ciudad de Quito bajo el análisis de la técnica manual en tubo con la ayuda de anticuerpos monoclonales como: Anti-A1, extracto de las lectinas *Dolichus biflorus* y alta reactividad del anticuerpo que facilita la distinción entre los grupos A1 y A2 presentes en la superficie de las células rojas, así mismo el anticuerpo Monoclonal Anti-H, facilitó la distinción entre subgrupos A2 y A intermedio. Este estudio de tipo transversal con frecuencias evaluadas durante un período de tiempo establecido desde junio hasta agosto del 2013, se basó en un muestreo aleatorio simple a nivel de los donantes tipificados como grupo A y AB, con un grado de confianza del 95% y una precisión del 3%; se estableció un tamaño de muestra para los donantes tipificados como A de 722 y AB de 56 muestras. **Resultados.-** En el presente estudio se determinó la existencia del subgrupo el A1 en un 75,7%, A2 en 13,4%, A1B en 5,1%, A2B en 1,8% y A intermedio y AintB en una frecuencia del 3,7% y 0,3%. **Conclusiones y Recomendación.-** Con los resultados obtenidos se concluyó que en la población ecuatoriana existe una variabilidad del grupo sanguíneo “A” relacionada con la procedencia del donante. Se recomienda la implementación de la tipificación de los subgrupos de los diferentes tipos de antígenos sanguíneos A, B, O en el laboratorio de rutina a nivel nacional, sea bien bajo la técnica en tubo, como bajo otros métodos como tarjetas de gel o secuenciación por PCR, evitando así problemas de incompatibilidad con el único fin de mejorar la calidad de vida de los pacientes y a su vez crear una base de datos que complemente a la actual.

ABSTRACT

"Frequency of subgroups antigen "A" on volunteer donors attending to the Blood Center of Ecuador", north of Quito - Ecuador, 2013

Introduction.- The presence of weak variants of the blood group "A" represent a challenge in the practice of immunohematology for discrepancies in the time of the classification. It is common in blood banks to perform a forward and reverse typing for the purpose of confirming the blood type, but not all the people with a subgroup "A2" have developed anti-A1 antibodies, making it difficult to detect. In the literature there are reports of alloimmunization in patients with "A" subgroups who received kidney transplants or stem cells from a different blood group and developed various degrees of hemolysis, so there are also studies on hemolytic disease of the newborn occurred in mothers of blood type "A2" with children "A1".

Materials and Methods. - Descriptive study that establishes the proportion of subgroups of antigen "A" at the National Blood Center in the north of Quito with the analysis of manual tube technique and with the help of monoclonal antibodies like, Anti-A1 extract *Dolichus biflorus* lectins high reactivity with anti-A1, which makes the distinction between the "A1" and "A2" groups of red cells. The monoclonal antibody anti-H, which will help in distinguishing between subgroups "A2" and "A intermediate". This study of transversal frequencies was evaluated over unestablished period of time since June up to august, based on a level of simple random sampling donors classified as group "A" and "AB", with a confidence level of 95% and 3% of precision, a sample size for donors were classified as "A" 722 and "AB"81 samples established. **Results.** - In the present study the existence of the subgroup "A1" had a 75,7%; "A2" 13,4%; "A1B" 5,1%; "A2B" 1,8%, "A intermediate" and "AintB" was determined at a frequency of 3,7% and 0,3% respectively. **Conclusions and Recommendation.** -We conclude that Ecuadorian population has a variability of blood group "A" related to the origin of the donor. It is recommended to implement typing subgroups of different types of blood in the routine laboratory nationwide to be well under the tube technique, as in other methods such as gel cards or PCR sequence, with the sole purpose of avoiding incompatibility problems and saving lives. Last but not least, creating a database to complement the current in the country and obtain timely manner compatible blood.

TABLA DE CONTENIDO

CAPITULO I.....	10
1.1 JUSTIFICACIÓN	10
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
1.3 OBJETIVOS.....	14
1.3.1 OBJETIVO GENERAL.....	14
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
1.3.3 LIMITACIÓN DEL ESTUDIO.	14
CAPÍTULO II.....	15
2.1 MARCO TEÓRICO.....	15
2.1.1 ANTECEDENTES	15
2.1.2 GRUPOS SANGUÍNEOS A.....	17
2.1.3 DIFERENCIAS ENTRE SUBGRUPOS DE A	19
2.1.4 PROBLEMAS POST TRANSFUSIONALES	19
2.1.5 ERITROBLASTOSIS FETAL POR ABO	21
2.1.6 IDENTIFICACIÓN cisAB.....	21
2.1.7 IDENTIFICACIÓN DE SUBGRUPOS A EN EL LABORATORIO	22
2.1.7.1 Técnicas manuales.....	22
2.1.7.2 Técnica en tubo y tarjetas de gel: Ventajas y desventajas	22
2.1.7.3 Interferencias en la identificación de Subgrupos A	23
2.1.8 TÉCNICAS AUTOMATIZADAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE SUBGRUPOS DE A	24
2.1.8.1 Técnica en microcolumnas en Gel.....	24
2.1.8.2 Secuenciación de ADN (PCR)	25
2.2 MARCO CONCEPTUAL	27
CAPITULO III.....	31
3.1 MARCO METODOLÓGICO	31
3.1.1 MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
3.1.1.1 Tipo de Estudio.....	31
3.1.1.2 Tipo de Muestreo.....	31
3.1.1.3 Tamaño de Muestra.....	31
3.1.1.4 Criterios de Inclusión	33
3.1.1.5 Criterios de Exclusión	33

3.1.1.6	Control de Calidad	34
3.1.1.7	Análisis Estadístico	34
3.1.2	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	34
3.2	MATERIALES Y PROCESOS	36
3.2.1	MATERIALES	36
3.2.2	REACTIVOS	36
3.2.3	PROCESOS	39
3.2.3.1	Toma de muestra	39
3.2.3.2	Método Directo en tubo	39
3.2.3.3	Método Inverso en tubo	40
3.2.4	CONTROL DE CALIDAD	40
CAPÍTULO IV		43
4.1	RESULTADOS	43
4.2	DISCUSIÓN	50
4.3	CONCLUSIONES	54
4.4	RECOMENDACIONES	55
4.5	ANEXOS	56
4.6	BIBLIOGRAFÍA:	67

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Porcentaje de donantes de sangre de acuerdo al grupo sanguíneo 2009-2012.

Tabla 2: Operacionalización de variables.

Tabla 5.1: Control de calidad del Reactivo Anti-A

Tabla 5.2: Control de Calidad del Reactivo Anti-B

Tabla 5.3: Control de Calidad de Células A1 y B

Tabla 5.4: Frecuencia de subgrupos del antígeno A

Tabla 5.5: Frecuencia de Subgrupos del antígeno A en relación al género del donante de sangre.

Tabla 5.6: Frecuencia de subgrupos del antígeno A de acuerdo a la edad del donante.

Tabla 5.7: Frecuencia de subgrupos del antígeno A por provincia

Tabla 5.8: Presencia de aloanticuerpos anti-A1 en donantes con subgrupos del antígeno A

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Diferencias entre las enzimas A y B transferasas

Gráfica 2: Forma estructural que diferencia a los antígenos A y B a partir de la sustancia H precursora.

Gráfico 5.1: Total de donantes que intervinieron en el estudio.

Gráfico 5.2: Total de donantes de sangre clasificados de acuerdo al grupo sanguíneo.

Gráfico 5.3: Porcentaje de subgrupos del antígeno A detectados en donantes de sangre

ANEXOS

Anexo 1: Formulario de Consentimiento Informado

Anexo 2: Protocolo de Control de Calidad de Reactivos ABO y células A1-B

Anexo 3: Formulario Hemocentro Nacional para donación voluntaria

Anexo 4: Temperatura Termohidrómetro

Anexo 5: Temperatura Termobloque

Anexo 6: Temperatura Hemoteca

Anexo 7: Recolección de muestras (Sección de manguera funda de donación)

Anexo 8: Lavado celular al 3%

Anexo 9: Dispensador de solución salina al 0,9% y serófuga

Anexo 10: Reactivo empleado para identificación de subgrupo A1 Lectina Dolichus biflorus

Anexo 11: Técnica en tubo una vez colocado el reactivo añadimos la muestra

Anexo 12: Visualización del Resultado

Anexo 13: Grupo inverso Reactivos

Anexo 14: Grupo Inverso y control de calidad células DiaCell ABO

Anexo 15: Procesamiento muestras: Recolección de datos donante en el programa Delfín Hemocentro de Cruz Roja

LISTA DE SIGLAS

AABB: Asociación Americana de Bancos de Sangre

ADN: Ácido desoxirribonucleico

CID: Coagulación intravascular diseminada

EHRN: Enfermedad hemolítica del recién nacido

HDFN: Hemolytic disease of the fetus and newborn

HTR: Reacción Hemolítica por Transfusión

IgG, A, M: Inmunoglobulina G, A, M

ISO: International organization for standardization

KB: Kilobases

MHC: Major Histocompatibility Complex

MSP: Ministerio de Salud Pública

NAT: Nucleic Acid Technology

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPS: Organización Panamericana de la Salud.

PB: Pares de Bases

PCR: Reacción en Cadena de la Polimerasa

SABO: Subgrupos ABO

SGS: Société Générale de Surveillance

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

UDP: Uridin Di Fosfato

α 3Gal: Alfa 3 Galactosamina

α 3GalNac: Alfa 3 N-acetil Galactosamina

INTRODUCCIÓN

Desde el 2009, el Ecuador cuenta con un Hemocentro de Cruz Roja ubicado al norte de la ciudad de Quito, certificado bajo la norma de gestión de calidad Internacional ISO 9001-2008 conferido por la “Société Générale de Surveillance” (SGS de Ecuador) sede en Suiza (Suramérica, 2013); que hace del Hemocentro de Cruz Roja un centro de referencia para procesamiento y tamizaje serológico de todos los bancos de sangre a escala nacional cuya fortaleza es la provisión de hemocomponentes seguros, brindando la confianza no solo a los pacientes, sino también a médicos de todas las clínicas y hospitales con la finalidad de que reciban un producto que ha sido seleccionado en conformidad a los más altos estándares de calidad procesando y despachando de la mejor manera. (Cruz Roja, 2010)

Los procesos realizados en el Hemocentro son: la recolección de unidades de sangre, recepción, triage, ejecución de pruebas serológicas, inmunohematológicas, biología molecular NAT, fraccionamiento, etiquetado, almacenamiento; todos son parte del proceso que permite obtener derivados sanguíneos de calidad para posterior uso a nivel nacional especialmente en hospitales estatales. Lamentablemente la tipificación de los diferentes subgrupos sanguíneos no está dentro de los procesos principales de los bancos de sangre, clínicas o centros de salud del país (Cruz Roja, 2010).

Los grupos sanguíneos del sistema ABO fueron los primeros en ser descubiertos y constituyeron los antígenos de mayor importancia a nivel de medicina transfusional, trasplante de tejidos, órganos, células madre y enfermedad hemolítica del recién nacido, por lo que su compatibilidad es esencial y estos procesos deben realizarse para evitar todo problema futuro que influya sobre el receptor en el momento de una transfusión. (Arbeláez, 2009)

La transfusión de sangre es un proceso minucioso que se realiza a un individuo que necesita incluir a su sistema circulatorio hemocomponentes u otros fluidos ajenos, obtenidos mediante aféresis o separación automática en los bancos de sangre, es por ello que estas técnicas y sus procesos tienen que ser apropiadas con un control de calidad estricto para garantizar la seguridad del paciente. (Daniels & Bromilow, 2010).

Se debe tomar en consideración que al igual que un trasplante donde se toma un tejido u órgano y se lo implanta en otro cuerpo o en otra parte del mismo cuerpo, se requiere de

pruebas que garanticen su idoneidad, compatibilidad y seguridad para garantizar sus resultados, para lograr todo esto se requiere un control de calidad extremo y cauteloso para brindar fiabilidad del trasplante, de igual manera ocurre en una transfusión sanguínea. (Daniels & Bromilow, 2010)

Ecuador cuenta con una escasa investigación de los antígenos eritrocitarios, debido a una falta de reactivos para realizar una fenotipificación extensiva donde el donante conozca todo su grupo sanguíneo sin limitaciones, como sucedió en el estudio realizado en la ciudad de Cuenca que determinó una prevalencia del 81% de subgrupos A1, mayor al detectado en el presente estudio que fue del 75,7%, pero en el cual no se consiguió detectar subgrupos A2 ni A1B y A2B incluyendo los A intermedios, debido a una falta de reactivos para investigar los subgrupos mencionados. (Gordillo & Guñay, 2011)

Varios estudios demuestran la importancia de los subgrupos del antígeno A tanto en reacciones pos transfusionales, anemia hemolítica del recién nacido como en trasplantes renales y células madre debido a la capacidad inmunógena que presentan estimulando la producción de anticuerpos anti-A1 (Akkök, Haugaa, Galgerud, & Brinch, 2013). En el presente estudio se determinó la existencia del subgrupo A2 y A2B además se detectó un A intermedio y A intermedio B en una frecuencia del 3,7% y 0,3% respectivamente, lo que confirma que en la población ecuatoriana existe una variabilidad del grupo sanguíneo "A". En cuanto al antígeno A intermedio (Aint) que por lo general es más frecuente en la raza negra que en la caucásica, en este estudio se detectó una prevalencia del 3,7%. (Akkök, Haugaa, Galgerud, & Brinch, 2013)

La investigación realizada permitió prevenir la aloinmunización de la población participante ya que se determinó la presencia de anticuerpos anti-A1 sólo en el 1% (1) de los participantes, mientras que el 99% restante aún no se encontraban aloinmunizados. Otro aspecto importante fue relacionar la presencia de subgrupos A con la procedencia geográfica existiendo una distribución de todas las variantes de A en la provincia de Imbabura, estos datos están relacionados con los reportados en la literatura que mencionan que los subgrupos de A son más comunes en la raza negra que en la caucásica (García Rosascos, Lippi, & Valverde, 2001).

En la provincia de Imbabura se estima que se asienta el 3,6% de la población negra, 2,0% mulatos y a nivel país el 75% de mestizos (INEC-EMEDINHO, 2000), los resultados de las variantes de los subgrupos encontrados corroboran con lo que menciona García *“mestizaje o mezcla poblacional”* (García Rosascos, Lippi, & Valverde, 2001). Todo el análisis y los estudios anteriores relacionados con el tema, demuestran la importancia de instituir la detección de antígenos y subgrupos de A en los donantes que fueron tipificados inicialmente como A con el fin de prevenir una aloinmunización y en mujeres evitar una anemia hemolítica del recién nacido (Daniels & Bromilow, 2010).

CAPITULO I

1.1 JUSTIFICACIÓN

Una de las acciones para prevenir las reacciones transfusionales y brindar seguridad a la población de donadores y receptores de sangre, constituye la identificación de grupos y subgrupos de los diferentes tipos sanguíneos, en este caso se estudia principalmente al tipo de sangre A y AB. (Fernández R. A., 2012)

Se debe considerar que cada uno de los derivados sanguíneos (Glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas y crioprecipitados) son utilizados por varios y distintos receptores, cada uno de ellos con características genéticas y patología diferentes y por esta razón el uso de derivados sanguíneos incompatibles puede producir la destrucción de los glóbulos rojos del donante y por ende una reacción postransfusional ya sea inmediata o tardía. (Pedrosa AK, 2013) (Akkök, Haugaa, Galgerud, & Brinch, 2013)

En el país no existe información de los subgrupos del antígeno A, el determinar la presencia de estos subgrupos en la población de donantes voluntarios permitirá: establecer la importancia de incluir esta prueba como rutina en los servicios de medicina transfusional y en otros laboratorios que realizan pruebas simples y directas de tipificación y ofrecer esta información complementaria a las personas que acuden a donar su sangre. (Cruz Roja, 2010)

Este estudio proveerá de datos iniciales sobre la distribución de subgrupos sanguíneos A y AB en el Hemocentro Nacional de la Cruz Roja Ecuatoriana ciudad de Quito; pero es importante que se realicen estudios a nivel nacional para que se maneje así una fuerte y sustentable base de datos donde cada persona cuente con su grupo sanguíneo identificado de forma completa y se contemple a la vez la identificación de los subgrupos no solo del tipo de sangre A, sino también de los otros tres grupos sanguíneos y del factor Rh.

Generalmente, los problemas de incompatibilidad madre e hijo han sido detectados por la isoimmunización e incompatibilidad del sistema Rh; sin embargo el sistema ABO ha producido problemas de tipo hemolítico, un caso descrito fue un recién nacido de 24 horas, quien sufrió de una anemia que casi lo llevó a la muerte, al realizar los estudios

correspondientes se determinó que la madre fue de grupo sanguíneo O, con un “inmuno tipo” de anti – A1 (IgG), y el padre presentó un tipo de sangre A1B; al realizar el grupo sanguíneo del niño correspondía a un subgrupo A1. (P.O. Hubinont, 1955). Otro caso reportado de incompatibilidad por subgrupo de A fue en un receptor grupo A2 que recibió una transfusión de sangre A1 sufriendo una severa anemia hemolítica, pues pasó desapercibido la presencia del anticuerpo anti-A1 desarrollado en el receptor (Akkök, Haugaa, Galgerud, & Brinch, 2013).

A pesar de que el anti-A1 es considerado un anticuerpo de tipo IgM, en ocasiones se desarrolla como un anticuerpo IgG que reacciona tanto a 4° y 37°C por lo que es considerado clínicamente significativo. (Akkök, Haugaa, Galgerud, & Brinch, 2013) La razón principal constituye que durante la transfusión de anti-A y/o anti-B IgG/IgM estos anticuerpos se unen a su antígeno correspondiente activándose el complemento y produciéndose una hemólisis intravascular con un desenlace fatal. (Akkök, Haugaa, Galgerud, & Brinch, 2013). De esto radica la importancia de detectar el subgrupo sanguíneo directo y por ende su grupo inverso es decir la detección del anticuerpo que actúa contra el antígeno del receptor como lo menciona el autor Hubinont desde el año 1955, a pesar de ello en la actualidad aún se obvia la investigación de subgrupos A.

Se ha reportado que la presencia de subgrupos de A han ocasionado discrepancias entre la determinación del grupo sanguíneo directo e inverso, lo que ha alertado a los servicios de sangre a determinar con exactitud el grupo sanguíneo, especialmente cuando el paciente se convierta en un donante. Por todo lo mencionado anteriormente, es necesario establecer si en la población de donantes ecuatorianos existe la presencia de subgrupos del antígeno A y compartir los resultados con el Programa Nacional de Sangre del Ministerio de Salud Pública y el Hemocentro de Cruz Roja Ecuatoriana.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los grupos sanguíneos del sistema ABO fueron los primeros en ser descubiertos y constituyeron los antígenos de mayor importancia a nivel de medicina transfusional, trasplante de tejidos, órganos, células madre y enfermedad hemolítica del recién nacido, por lo que su compatibilidad es esencial. (Arbeláez, 2009)

Determinar la presencia de subgrupos del tipo de sangre A y AB evitará problemas no solo a nivel de transfusión sanguínea en los banco de sangre, sino también en casos de trasplantes como lo menciona el autor del artículo titulado: “El primer trasplante de riñón de un donante vivo (ABO incompatible) llevado a cabo en Italia”; donde se muestra que los trasplantes ABO incompatibles provocan la denominada enfermedad huésped contra injerto, en este caso el donante presentaba un tipo de sangre A1 y su receptor un título bastante alto del anticuerpo IgG anti-A1 (1:512), lo que desembocó en el rechazo al trasplante renal en el receptor llevándolo nuevamente a una diálisis de por vida. (Sassi, Maggiore, Buzio, & Franchini, 2010).

Este problema es muy común en una transfusión sanguínea incompatible de subgrupos del tipo de sangre A y AB debido a que, al transfundir antígenos del subgrupo A2 a un paciente con grupo sanguíneo A1, dicho sistema inmune del receptor producirá anticuerpos contra la sangre administrada (anticuerpo anti- A2), al ser reconocido como “ajeno”. (González J. L., 2005)

Si bien es cierto, los anticuerpos anti-A1 no producen reacciones transfusionales inmediatas, estas pueden llegar a activarse a 37°C y provocar severos problemas hemolíticos luego de horas o días después de la transfusión. (Akkök, Haugaa, Galgerud, & Brinch, 2013)

En la actualidad el sistema de tipificación del Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana, incluye cuatro métodos como: pruebas de tipificación sanguínea directa, inversa, rastreo e identificación de anticuerpos irregulares, todos estos procesos mantienen altos estándares de calidad para evitar posibles errores; sin embargo, no se determinan los subgrupos del tipo de sangre A y AB. (Cruz Roja, 2010)

De acuerdo a los resultados del análisis retrospectivo realizado en el Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana durante los años 2009-2012, el 16,58% de donantes corresponde al grupo

de sangre A y el 1,05% al grupo AB, de estos y de muchos resultados a nivel nacional se desconoce la fenotipificación de los subgrupos del tipo de sangre A. (Ulloa, 2012)

El desconocimiento de los subgrupos de A puede convertirse en una de las causas de eritroblastosis fetal por incompatibilidad entre A1 y A2 (P.O. Hubinont, 1955) (Moreno, Lundblad, & Kabet, 1971), por lo que al realizar una tipificación completa en mujeres en edad fértil se puede prevenir posibles inmunizaciones al tener hijos con antígenos eritrocitarios diferentes. (Deng, et al., 2008)

El reporte de casos por incompatibilidad de los grupos de A son una alerta para los servicios de medicina transfusional del país en los que se realiza la tipificación del sistema ABO de forma directa e inversa pero no se determinan los subgrupos de A y únicamente se controla la presencia de anticuerpos anti-A y anti-B siguiendo la normativa dada por el Ministerio de Salud Pública que menciona “Coordinar con el médico tratante el empleo, de la mejor alternativa de transfusión de sangre y hemocomponentes (ABO compatibles o búsqueda de unidades especiales)” (Yajamin, 2004)

De acuerdo a lo anteriormente mencionado se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la frecuencia de subgrupos del tipo de sangre A y AB, en donantes voluntarios que acuden al “Hemocentro Nacional de la Cruz Roja Ecuatoriana”, al norte de Quito - Ecuador, 2013?.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Establecer la frecuencia de subgrupos del tipo de sangre A y AB en donantes voluntarios del Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana, de junio a agosto del 2013.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer la prevalencia de subgrupos A1, A2, A1B y A2B de los donantes del Hemocentro de Cruz Roja Ecuatoriana.
- Determinar la frecuencia de subgrupos A1, A2 mediante la técnica en tubo en donantes voluntarios del Hemocentro de Cruz Roja Ecuatoriana con tipo sanguíneo A y AB.
- Determinar la frecuencia de subgrupos A1B, A2B mediante la técnica en tubo en donantes voluntarios del Hemocentro de Cruz Roja Ecuatoriana.
- Establecer la frecuencia de subgrupos A intermedio y A intermedio B mediante el uso del reactivo anti-H en donantes del Hemocentro de Cruz Roja Ecuatoriana.
- Establecer la frecuencia de subgrupos de A de acuerdo al género y edad del donante.
- Correlacionar la presencia de subgrupos A1, A2, Aint, AintB con la procedencia del donante.
- Determinar la presencia de anticuerpos anti-A1 en donantes tipificados con subgrupos de A del Hemocentro de Cruz Roja Ecuatoriana.

1.3.3 LIMITACIÓN DEL ESTUDIO.

La técnica seleccionada para este estudio es la técnica manual en tubo, la que será controlada con “células control” comerciales y la capacitación de la lectura con ayuda de un experto. No se utilizará la técnica en tarjetas de gel, pese a ser la recomendada, por el costo elevado de cada prueba, y el requerimiento de equipos específicos de acuerdo a la casa comercial y que actualmente en el país, son comercializados únicamente por dos distribuidores.

CAPÍTULO II

2.1 MARCO TEÓRICO

2.1.1 ANTECEDENTES

Ecuador es el cuarto país en latinoamérica que posee un Hemocentro, el mismo que se encarga de analizar y evaluar la sangre antes de su uso en transfusiones sanguíneas, procesos que han sido acreditados por la norma ISO 2009. (Cruz Roja, 2010)

En la ciudad de Quito, ubicado al Norte en el sector de Carapungo entre la calle Ulpiano Becerra s/n y Geovanni se encuentra el Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana, donde hasta el año 2012 se recolectaron 100 mil unidades de sangre y a nivel nacional se conoce que se reciben 10 mil donantes voluntarios al mes y hasta 500 donantes diarios, existiendo un porcentaje de rechazo por varias causas del 15 al 25%. (Cueva O, 2010)

La Sociedad Internacional de Transfusión Sanguínea, reconoce que existen 328 antígenos eritrocitarios, de los cuales 284 son clasificados en 30 sistemas sanguíneos, como el SABO, Kidd, Duffy, Lutheran, Kell, Diego entre otros. (Daniels & Bromilow, 2010). Fue Landsteiner quien determinó que los seres humanos presentaban diferentes grupos de sangre clasificados de acuerdo a su reactividad antígeno – anticuerpo al momento de realizar un análisis de tipificación sanguínea ABO. En 1930 von Dungern y Hirsfeld subdividieron al grupo sanguíneo A en dos subgrupos principales clasificados como A1 y A2, determinados así por su reactividad frente al anticuerpo Anti-A1 o lectina. (Reid, Lomas-Francis, & Olsson, 2012)

La falta de información y a la vez de implementación de las técnicas de identificación de subgrupos como prueba de rutina han ocasionado la presencia de reacciones pos transfusionales tardías, como fue el caso del estudio realizado por Akkok y colaboradores que demostraron incompatibilidad por anti-A1, resultando de ello una reacción hemolítica tardía cuya causa principal se debió a la producción de anticuerpos A1 en personas con subgrupo A2, esto ocurre porque las células A1 difieren de las A2 por el número de sitios en los antígenos localizados en la membrana del eritrocito produciendo una aloinmunización y la

formación de anticuerpos irregulares naturales. (Akkök, Haugaa, Galgerud, & Brinch, 2013) (González J. L., 2005)

Los genes que codifican el sistema ABO se caracterizan por su polimorfismo lo que en ocasiones produce una disminución en la cantidad de antígenos A o B dando lugar a la formación de subgrupos. Los subgrupos de A producen varios grados de reactividad o aglutinación con los reactivos monoclonales anti-A, generalmente con la lectina proveniente de *Dolichus biflorus* que distinguen entre A1 de A2 y el Anti-H que distinguen al tipo de sangre A2 y Aint. La presencia de anticuerpos Anti-A1 son detectados al realizar la prueba inversa frente a células A1 con las que reaccionan fuertemente a temperatura ambiente. (Shamee Shastry, 2010)

Al estudiar la prevalencia de subgrupos de A los investigadores reportan que varían de acuerdo a la procedencia y la raza, así mencionan que la frecuencia en Japoneses y personas de raza negra es significativamente alto el fenotipo A2B. En Ecuador se desconoce la prevalencia de subgrupos de A y si ha existido reacciones postransfusionales o incompatibilidad entre la madre A2 y el feto A1 debido a que no existe un programa de hemovigilancia que permita obtener estos datos relevantes.

Por lo tanto, la importancia en la detección de los grupos sanguíneos y por ende de los subgrupos viene desde los casos clínicos, en los que se ha evidenciado que muchos de los grupos sanguíneos tienen el potencial de provocar reacciones transfusionales hemolíticas inmediatas o bien luego de varios días luego de la transfusión. El anticuerpo anti-A1 generalmente es de tipo IgM y raras veces reacciona a 37°C, sin embargo en pacientes o madres de grupo sanguíneo A2 que fueron sensibilizados crean un anticuerpo inmune de tipo IgG (Akkök, Haugaa, Galgerud, & Brinch, 2013) por lo que en el caso de mujeres embarazadas, este anticuerpo tiene la capacidad de atravesar la placenta y provocar aloinmunización fetal mejor conocida como enfermedad hemolítica del recién nacido (HDFN) (Del Inglés: Hemolytic disease of the fetus and newborn). (Daniels & Bromilow, 2010)

Adicionalmente se reportó un caso de reacción hemolítica por anti-A1 en un paciente que recibió células madres (stemcell) alogénicas, al igual que el caso anterior fue sensibilizado inicialmente y luego reaccionó bruscamente ante la presencia de células A1, luego de este episodio los investigadores recomendaron incluir la tipificación de los subgrupos A1, con el

objetivo de prevenir esta situación en casos similares. (Akkök, Haugaa, Galgerud, & Brinch, 2013)

2.1.2 GRUPOS SANGUÍNEOS A

Los grupos sanguíneos presentan antígenos cuyos alelos son producidos por un solo locus en el cromosoma, es decir el carácter hereditario se encuentra en la superficie del eritrocito el cual, es detectado por un aloanticuerpo específico que representa un monosacárido simple con terminales inmunodominantes que son: alfa 3 N – acetil Galactosamina (α 3GalNac) para el tipo de sangre A y alfa 3 Galactosamina (α 3Gal) para B. (Reid, Lomas-Francis, & Olsson, 2012)

Los grupos sanguíneos están diferenciados por la cantidad de antígenos de A, B u O (H) que se encuentran sobre la membrana del eritrocito, los subgrupos o variantes más comunes son los del tipo de sangre A y B, de los cuales los clasificados como A son: A1, A2, A3, Ax, Aend, Am, Ael, siendo los más importantes y de mayor prevalencia los A1 y A2. Los subgrupos del tipo de sangre B son: B, B3, Bx, Bm, Bel. Y por último los subgrupos del tipo de sangre AB, los que presentan 9 variedades: AxB, A1Bx, AmB, A1Bm, AelB, A1Bel, cisA2B3, cisA2B y cisA1B3 (AABB, 2012). (González, Bencomo, Alfonso, Martínez, & Rivero, 1998)

Las diferencias entre los subgrupos de A, depende de la cantidad de proteína hallada en la superficie de los eritrocitos, conociendo que la transferasa A1 es mucho más productiva que la A2 en el momento de transformar la sustancia H al antígeno A; su diferenciación serológica depende de la aglutinación de los antígenos eritrocitarios de A sobre los anticuerpos o antisueros presentados como es el anti-A1 o lectina. (AABB, 2012)

Los hematíes A1 son aglutinados por la lectina de *Dolichus biflorus* (anti-A1), los A2 por la lectina de *Ulex europaeus* (anti-H), mientras que los hematíes Aint, son aglutinados inesperadamente y en forma variable por ambas. (AABB, 2012)

Los anticuerpos anti-A y anti-B pueden representar isotipos de las inmunoglobulinas IgM, IgG cuya temperatura de reacción es de 4 a 37°C respectivamente, también pueden presentar una inmunoglobulina IgA que reacciona a una temperatura de 4°C. En la transfusión, el anticuerpo anti-A1 se lo considera clínicamente insignificante y raro, puesto que este

anticuerpo no suele activarse sino en temperaturas mayores a 25 °C, como sucedió en el estudio realizado por Akkok, Cigdem (2013), donde se detalló una severa reacción hemolítica por transfusión en un paciente con tipo de sangre A2, que al recibir un trasplante de células madre de un pariente con tipo de sangre O mediante alogénización por sangre periférica, su temperatura corporal llegó a los 37°C tras un proceso febril provocado por la reacción de transfusión al hemolizar sus células por acción del anticuerpo A1 natural que poseía el donante. (Akkök, Haugaa, Galgerud, & Brinch, 2013)

Así mismo en el recién nacido al heredar el tipo de sangre del padre A2 y siendo la madre A1, se da un proceso de aloinmunización materno fetal que, dependiendo del trimestre de embarazo, podría causar muerte. La incompatibilidad dada por la presencia de antígenos en el recién nacido, diferentes a los anticuerpos tipo autoinmune como son los Anti-A, Anti-B producen sensibilización contra antígenos localizados en los glóbulos rojos del feto, cuya reacción produce un tipo de inmunoglobulina IgG que puede llegar a causar problemas letales. (Akkök, Haugaa, Galgerud, & Brinch, 2013)

Pero también se detallan otro tipo de aloinmunizaciones como es el ocasionado por un fenotipo poco casual y que presenta tres tipos sanguíneos: cisA2B3, cisA2B, cisA1B3 cuya variación es sumamente importante en los procesos de transfusión sanguínea y problemas de paternidad. (Deng, et al., 2008)

En el estudio realizado por Deng, 2008 se diagnosticó enfermedad hemolítica por ABO en un feto que resultó ser un ejemplo en donde madres con tipo de sangre O y un título elevado de IgG dieron a luz a niños con grupo de sangre A2B, causando un gran impacto entre dicha herencia que involucra un fenómeno hemolítico y hereditario conocido como cisAB. (Deng, et al., 2008)

Existen prácticas médicas donde se ha necesitado una dosis adicional de sangre debido a la pérdida masiva de la misma, es ahí donde se utilizan las denominadas múltiples transfusiones sanguíneas, muchas de las cuales han ocasionado reacciones hemolíticas en el receptor. Pero no solo se observa una reacción ante la transfusión de sangre sino también ante otro tipo de trasplantes como es el caso de un trasplante de riñón realizado en Italia donde se demostró como un donante con tipo de sangre A1 provocó un aumento de anticuerpos a su receptor, el título del anticuerpo IgG anti-A1 (1:512) lo que desembocó una reacción contra el trasplante. (Sassi, Maggiore, Buzio, & Franchini, 2010)

2.1.3 DIFERENCIAS ENTRE SUBGRUPOS DE A

Los subgrupos del tipo de sangre A presentan una sustancia precursora tipo “H”, según su clasificación tipo II, el tipo de sangre A1 presenta una diferencia cualitativa y cuantitativa del A2, debido a la cantidad de antígeno A presente en la misma y dicho antígeno conlleva los siguientes subtipos H1, H2, H3, H4, mientras que el tipo de sangre A2 lleva en su locus, únicamente los dos primeros. (Baez, 2000)El antígeno H está presente en todos los eritrocitos humanos, menos en aquellos con fenotipo O_h también conocido como grupo sanguíneo Bombay y su orden de reactividad de anti-H con los diferentes grupos sanguíneos ABO tiende a ser $O > A_x > A_3 > A_2 > B > A_2B > A_1 > A_1B$. (DiaMed, 2011) (Dueñas, 2003)

Existen otros subgrupos de A poco vistos en la experimentación y son A_x , A_m , A_{end} , A_{el} y A_{finn} , pero en los últimos estudios se ha descubierto al tipo de sangre A_{int} que viene de la palabra “intermedio ya que comparte caracteres de A1 y A2”. Muchos de los errores comunes en los laboratorios de rutina es que los subgrupos del tipo de sangre A no son reconocidos, únicamente enfatiza en la tipificación sanguínea del factor Rh y el reconocimiento de los antígenos del sistema SABO; por lo que al no diferenciar los subtipos de A puede llevar al operador a identificarlo como un tipo O lo que ocasionaría serios problemas de reacciones transfusionales en cuanto el paciente reciba una transfusión sanguínea. (Baez, 2000)

El subgrupo sanguíneo tipo A2 presenta además un gen de tipo “Se” que al igual que el gen “H” se localizan en el cromosoma 19 y actúa frente a la enzima fucosiltransferasa expresando su codificación en las células de los tejidos de acción secretora, este gen en el antígeno A2 es la forma soluble del antígeno H y los tejidos donde actúa son los de la cavidad bucal donde se ubican las glándulas salivales, cavidad respiratoria, fosas nasales (células caliciformes epitelio cilíndrico pseudoestratificado y nariz), y cavidad gastrointestinal principalmente el estómago e intestino delgado. (Arbeláez, 2009)

2.1.4 PROBLEMAS POST TRANSFUSIONALES

La respuesta inmunológica de los antígenos del sistema ABO es independiente de células T y producen altos títulos de anticuerpos de tipo IgM. Estas isohemaglutininas (IgM) son encargadas de activar el sistema de complemento, frente a un antígeno extraño llegando a

ocasionar daños irreparables como hemólisis y coagulación intravascular diseminada (CID), fallo renal, shock y muerte. Por otro lado, las inmunoglobulinas tipo IgG actúan como mediadores de estas reacciones por lo que los glóbulos rojos recubiertos de anticuerpo son fagocitados en el sistema retículo endotelial durante un período más prolongado de tiempo evitando así la reacción inmunológica. (Siegel, 2001)

Es por ello que se debe observar como mínimo 30 min a un paciente que ha recibido una transfusión, con el fin de actuar inmediatamente en caso de que existe una respuesta temprana o tardía del intercambio celular. La fiebre, presión baja, sangrado, ictericia, o reacción de hipersensibilidad (alergias) son presuntas demostraciones de que ha ocurrido un problema en la transfusión de hemocomponentes. Entre estas la fiebre desencadena una reacción post transfusional importante, cuando los receptores presentan un subgrupo sanguíneo diferente al donante ya que muchos de los anticuerpos A1 y A2 se activan a los 37°C. (Arbeláez, 2009)

Desde años atrás los trasplantes de órganos y tejidos se han venido realizando, las transfusiones de sangre incompatible no son las únicas que han causado consecuencias fatales, desde los años 70, trasplantes renales de subgrupo A1 a receptores del grupo sanguíneo O ofrecieron un desenlace mortal, esto se debe a que tejidos del subgrupo A1 presentan un cantidad alta de antígenos A en comparación al subgrupo A2 (Rydberg, 2001), el desarrollo de títulos altos anti-A1 son los que ocasionan problemas de rechazos, por esta razón títulos reducidos antes de realizar el trasplante han tenido resultados exitosos. Esta técnica se implementó en los 80s gracias a un protocolo inmunosupresor de fármacos y esplenectomía logrando disminuir los títulos de anticuerpos y evitar una reacción indeseable. (Rydberg, 2001)

Los casos de trasplantes en adultos, que resultan exitosos bajo este método de reducción de títulos de anticuerpos, son los trasplantes renales. El órgano lucha por su supervivencia, a través de la reacción de los genes protectores que responden a los anticuerpos no compatibles de bajo nivel logrando restablecer y mantener sus funciones. En cambio en los niños, favorece su sistema inmune relativamente inmaduro y la tolerancia de células B, lo que ayuda a que el proceso sea exitoso. (Paul Warner, 2006)

2.1.5 ERITROBLASTOSIS FETAL POR ABO

Durante el embarazo existe la probabilidad de que una enfermedad hemolítica aparezca, esto se debe a que muchas parejas resultan ser ABO incompatibles y esto puede provocar que una madre y su bebé tengan un tipo de sangre propensa al rechazo mientras este se encuentre en período de desarrollo dentro de los 9 meses, los anticuerpos tipo IgG son causales de enfermedad hemolítica en el recién nacido ya que atraviesan la placenta, provocando que reaccionen contra los antígenos del bebé conduciéndolo a un cuadro agudo de ictericia y hasta un cuadro grave de “kernicterus” que lleva a la encefalopatía neonatal bilirrubina. (Arbeláez, 2009)

2.1.6 IDENTIFICACIÓN cisAB

El fenotipo cisAB es una expresión poco común de los grupos sanguíneos ABO, donde una madre con tipo de sangre AB, tiene un hijo tipo de sangre O. Estos alelos subtipo ABO confieren la capacidad de crear ambos antígenos A y B con una sola enzima, pero en este caso exclusivo se trata de una enzima mutante y la cinética de la misma que logra la aparición de este fenómeno, al identificar correctamente el fenotipo cisAB se evitaría tipificaciones sanguíneas erradas y aloinmunización. (Mark H. Yazer, 2006)

En este fenómeno poco común donde la genética de Mendel resulta totalmente contradictoria, ya que el carácter heredado en este caso de un solo padre resultan ser dos fenotipos el A y B, cada uno controlado por su respectiva enzima donde se revela que el plasma de cisAB presenta dos componentes enzimáticos separables, uno con propiedades cinéticas similares a los de A2, pero diferentes de la enzima A1, y otro con características cinéticas similares a las de B. La expresión cisAB, puede ser causa de la desigualdad de los pasos, junto con la producción de un cromosoma con alelos para enzimas A2 y B. (Yoshida, Yamaguchi, & Okubo, 1980)

La incidencia de cisAB en Latinoamérica es poco común, la mayoría de casos se los ha detectado en Japón con un porcentaje de 0.012%, pero también hay casos en países como Estados Unidos, Corea, Polonia, Francia, Rumania, Alemania y Bélgica, estas

incompatibilidades deben ser estudiadas para evitar enfermedades hemolíticas del recién nacido. (Nickel, 2005).

2.1.7 IDENTIFICACIÓN DE SUBGRUPOS A EN EL LABORATORIO

2.1.7.1 Técnicas manuales

Dentro de estas se destacan: la técnica en placa, actualmente la menos usada, ya que es propensa a mayores problemas en la detección, mala interpretación y contaminación de las muestras y reactivos utilizados.

Técnica en tubo conlleva una serie de procesos de preparación de la muestra para obtener resultados exitosos, como es el lavado celular al 3% (AABB, 2012); por lo que debe mantener un estricto control de calidad en cada uno de los pasos.

2.1.7.2 Técnica en tubo y tarjetas de gel: Ventajas y desventajas

Para la determinación de los subgrupos del tipo de sangre A y AB en este estudio se empleó la técnica manual en tubo, la cual es bastante accesible en el mercado con costos no tan elevados como la técnica en tarjetas de gel; permitiendo que cualquier centro de salud o laboratorio clínico la implemente dando a la tipificación de rutina una información adicional que complementa los procesos de transfusión, trasplante de órganos y tejidos.

La aglutinación en gel a diferencia de la técnica manual en tubo para la detección de antígenos en células rojas o tipificación sanguínea, presenta una mayor sensibilidad y especificidad en la detección de grupos y subgrupos ABO, ya que consta de 6 microtubos con el reactivo monoclonal anti-H, mejor conocido como "DiaClon Anti-H" permitiendo así un análisis fácil con mayor estandarización y correcta interpretación. (Langston, Procter, Cipolone, & Stroncek, 2002) Sin embargo presenta ciertas limitaciones en su uso, como la producción de falsos positivos y negativos por contaminación de material, residuos de fibrina, exceso muestra o bien descalibración del equipo empleado para separar los componentes o bien el de lectura de las tarjetas de gel. (DiaMed, 2011)

En un estudio se empleó la técnica en tubo y gel comparando entre 100 donantes mediante la obtención de la serotipificación ABO y los Rh entre ellos su fenotipo débil. (Langston,

Procter, Cipolone, & Stroncek, 2002), detectándose ventajas y desventajas de ambas técnicas.

Muchos estudios han demostraron que la detección del tipo de sangre A, B, D tanto con la técnica en gel como la técnica manual en tubo, fue precisa, siendo más efectiva la técnica en tubo para la determinación de isohemaglutininas (Langston, Procter, Cipolone, & Stroncek, 2002).

2.1.7.3 Interferencias en la identificación de Subgrupos A

Muchos factores físicos y químicos pueden alterar o interferir en el proceso de la tipificación sanguínea, en los procesos del laboratorio como también en el paciente actuando sobre el mismo, lo que conlleva a una reacción que muchas veces termina en consecuencias fatales. Dentro de éstas, las primordiales a tomar en cuenta son:

En el paciente: las cadenas de hidrogeniones de las moléculas de agua que presenta la sangre son exotérmicos y bastante fuertes en sus enlaces a bajas temperaturas, cuando existe un incremento exacerbado de la temperatura la disociación de complejos de antígeno – anticuerpo aumenta (sobre los 37°C), así es como los anticuerpos activados promueven la lisis eritrocitaria. (Daniels & Bromilow, 2010)

En el laboratorio: soluciones salinas isotónicas que contienen mayor carga de iones de sodio y cloro interfieren más en la reacción antígeno y anticuerpo. Esto es porque los iones se agrupan alrededor neutralizando las cargas opuestas de las moléculas. El reducir la fuerza iónica es bastante conveniente en las reacciones de aglutinación, pero a su vez debe ser controlada para evitar la absorción no específica de inmunoglobulinas en condiciones de baja fuerza iónica. (Daniels & Bromilow, 2010)

En el laboratorio: Un pH de aproximadamente 7,0 para las soluciones de lavado de células es aceptable, ya que las células rojas llevan carga negativa mientras que en un pH de 7 a 7,5 las moléculas se inclinan hacia una carga débilmente positiva que por un lado mejora la atracción entre los reactantes durante la primera etapa de aglutinación o sensibilización. De ello resulta la importancia de usar un tampón fosfato salino (PBS) que asegura que la solución salina utilizada en las pruebas de laboratorio de rutina no sea ácida. La reducción de las condiciones de pH aumenta la disociación de los complejos antígeno-anticuerpo. (Daniels & Bromilow, 2010)

En las células sanguíneas: El número de sitios antigénicos y su acceso a ellos, puede llegar a convertirse en una interferencia en la unión óptima con un anticuerpo apropiado. Cuando se trata de exceso de antígeno, los anticuerpos se reducen, produciendo así menor aglutinación, o una aglutinación débil.

Cuando un anticuerpo tiene baja constante de unión (K_o), aumenta la cantidad del mismo y a su vez la sensibilidad de la prueba, pero en consecuencia a esto, el efecto prozona aparece donde dicho anticuerpo en exceso llega a inhibir la aglutinación porque todos los sitios disponibles están saturados de antígeno, no dejando sitios libres para la formación de puentes entre anticuerpo unido a otra célula, produciendo muy pocas y pequeñas aglutinaciones visibles. La dilución del anticuerpo es una alternativa para volver a la fuerza de aglutinación normal, es decir a la zona de equivalencia en vez de la prozona causada por el exceso de anticuerpo. (Daniels & Bromilow, 2010).

2.1.8 TÉCNICAS AUTOMATIZADAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE SUBGRUPOS DE A

2.1.8.1 Técnica en microcolumnas en Gel.

Usado alrededor del mundo, este método es una de las técnicas más utilizadas en la actualidad y consiste en la utilización de tarjetas de gel que tienen la apariencia de micropocillos con una sustancia de poliacrilamida perlas de sílica, dextran-gel y otros que le da la apariencia de gelatina, en cuyo interior presenta anticuerpos anti-A, anti-B, Anti-AB de origen humano o monoclonal (Wilmer, 2006).

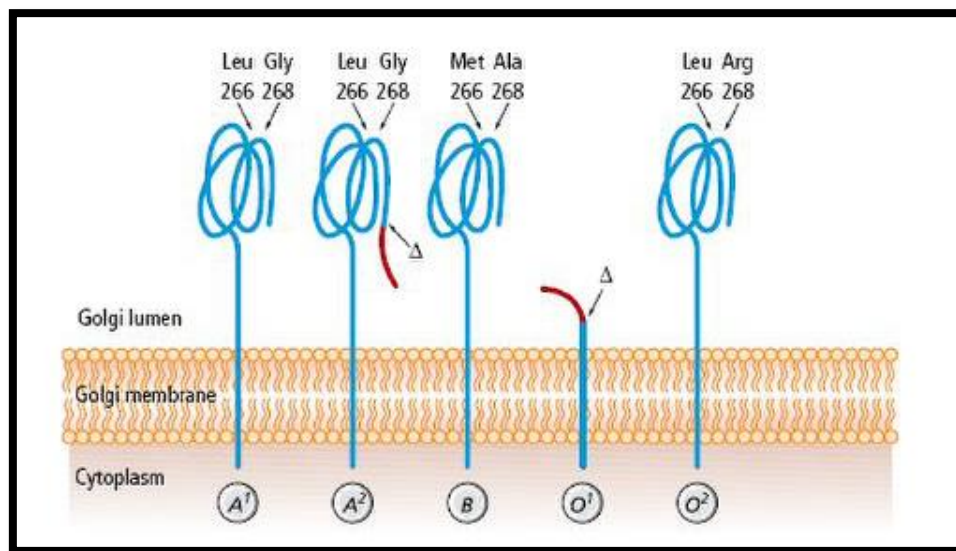
La muestra se prepara en suspensión para luego dispensar en los micropocillos, para inmediatamente se somete a un proceso de centrifugación y posterior lectura de resultados, los cuales gracias a la tecnología presentan un sistema digital donde al ingresar las características visuales de la tarjeta nos da el resultado obtenido. (Wilmer, 2006)

2.1.8.2 Secuenciación de ADN (PCR)

Esta técnica es una de las más avanzadas, donde por medio de la secuenciación de los genes del sistema ABO podemos identificar con mayor precisión y veracidad a cual subgrupo sanguíneo pertenece. El gen ABO se organiza en 7 exones, y presenta en sus cadenas más de 18 kilo bases (kb) de ADN genómico. Los exones varían en tamaño desde 28 hasta 688 pares de bases (pb) y los exones 6 y 7 que son los más grandes hasta 1.062 pb de longitud. (Yamamoto, 2002)

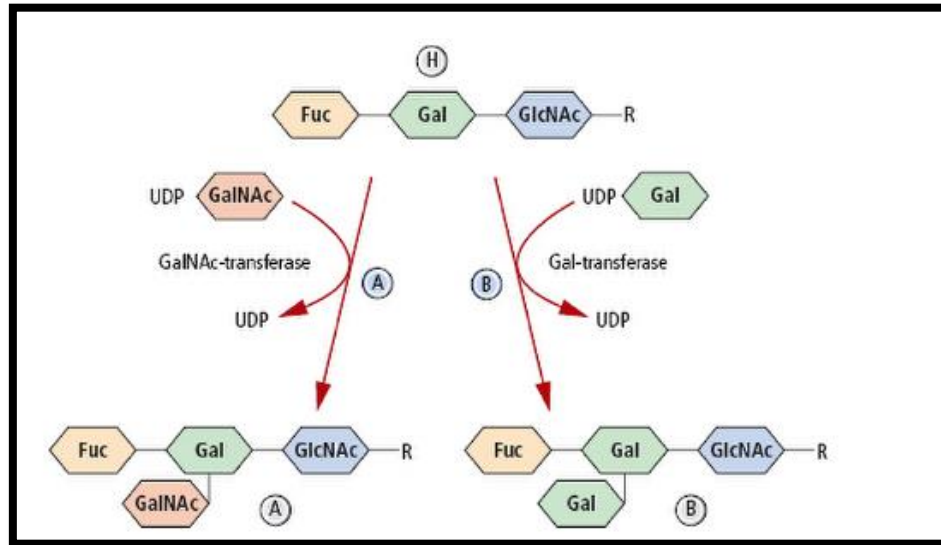
Los exones 6 y 7 dan lugar a cuatro sustituciones de aminoácidos que diferencian la A y B transferasas, y son responsables de alteraciones en dos sitios: Leucina 266 a Metionina y Glicina 268 a Alanina, como lo muestra el Gráfico 1. Lo que ayuda a determinar la especificidad de la enzima A transferasa: UDP- GalNAc y B transferasa: UDP – Gal que a partir de la sustancia precursora H, catalizan la producción del antígeno A y B respectivamente como lo muestra el Gráfico 2. (Yamamoto, 2002).

Gráfico 1: Diferencias entre las enzimas A y B transferasas



Fuente: (Daniels & Bromilow, 2010)

Gráfico 2: Forma estructural que diferencia a los antígenos A y B a partir de la sustancia H precursora



Fuente: (Daniels & Bromilow, 2010).

Tanto la técnica en tarjetas de gel como la secuenciación de ADN por PCR resultan sumamente costosas por los equipos automatizados que requieren, e implementarlas en un laboratorio de rutina no sería una opción. Si bien es cierto se les considera un gold estándar de la tipificación sanguínea, pero el tiempo de entrega de resultados bajo estos procesos serían bastante largos y minuciosos. (Langston, Procter, Cipolone, & Stroncek, 2002)

2.2 MARCO CONCEPTUAL

Aloanticuerpos: anticuerpos causantes de la destrucción de las células rojas transfundidas. (Arbeláez, 2009).

Aloinmunización: producción de anticuerpos contra antígenos de otro individuo, como es el caso de la producción de anticuerpos anti-D maternos Rh Negativos contra lo eritrocitos fetales Rh Positivos. (Deng, et al., 2008)

Anemia Hemolítica (AH): trastorno hemolítico causado cuando un autoanticuerpo se dirige directamente contra antígenos propios produce aumento en la destrucción de células rojas. (Deng, et al., 2008)

Anticuerpos: inmunoglobulinas secretadas por progenitores de los linfocitos B, que se diferencian en respuesta a la estimulación dada al antígeno. (Valdés & Hernández, 2001)

Antígeno A: formado de galactosaminiltransferasa que une al N-acetilgalactosamina a un carbohidrato que contiene antígeno H. (Plapp, 2008)

Antígeno B: formado por galactosiltransferasa que une D-galactosa a la misma cadena de antígeno H. (Plapp, 2008)

Antígeno H: producido por fucosiltransferasa codificado por el gen H del cromosoma 19 (Plapp, 2008)

Antígeno: sustancia capaz de inducir a la producción de anticuerpos con gran especificidad localizada en la membrana celular, cuya ubicación lo ayuda a interactuar o responder frente a anticuerpos. (Ramos, 2009)

Autoanticuerpos: son anticuerpos dirigidos contra antígenos del mismo individuo, pueden ser de tipo IgM encargados de activar el complemento, pero frecuentemente suelen ser de tipo IgG cuando hablamos de anticuerpos fríos. (Daniels & Bromilow, 2010)

Crioprecipitados: Es la parte insoluble en frío del plasma que resulta de la descongelación entre 1 y 6° C del plasma fresco congelado, precipitado blanco gelatinoso tiene un volumen de 15 a 25 ml y es una excelente fuente de fibrinógeno y factores VIII y XIII.

Donantes Diferidos: persona a la cual se la retrasa o retarda para la ejecución de la donación. Así mismo en el laboratorio se habla de diferir cuando se envía al paciente hacia otra institución para que sus muestras sean procesadas y analizadas. (Cueva O, 2010)

Donantes Rechazados: persona que no es aceptada para realizar la donación sanguínea esto tiene mucho que ver con los criterios de aceptación de las muestras en cada institución. (Cueva O, 2010)

Edad fértil: según la OMS es un período comprendido entre los 15 a 44 años, considerado en las mujeres como edad reproductiva. (Ministerio de Salud Pública, 2001)

Error alfa: clasificado como primera clase (tipo I), que aparta a una hipótesis nula cuando esta es acertada o verdadera. Es decir se rechaza una muestra cuando está dentro de los límites de tolerancia aceptados. Además se la considera en cierto aspecto más certero que el error β . (Barón López & Téllez Montiel, 2004). En resumen es la probabilidad de cometer interpretaciones Falsas Positivas.

Fenotipo: descripción física visible que nos indica que los antígenos están presentes en la membrana del eritrocito de dicho individuo con la ayuda de un test serológico o antisuero. (Plapp, 2008)

Frecuencia: número de casos que aparecen en una población determinada en un tiempo fijo. (Daniels & Bromilow, 2010)

Genotipo: descripción de los genes que presenta un individuo. (Chaudhary & Sonkar, 2004)

Hemoteca: denominación usada en el banco de sangre que almacena muestras y reservas de la sangre donada, en este caso son refrigeradoras grandes donde se almacenan las fundas de donación. (Enciclonet, 2014)

Isohemaglutininas: anticuerpos clase IgM dirigidos contra un grupo sanguíneo. (Animal., 2009)

Kernicterus: daño o afección cerebral cuando los niveles de bilirrubina son elevados y denota una ictericia severa por lo general sucede en los recién nacidos. (Deng, et al., 2008)

Lectinas: antisuero anti-A1, obtenido del extracto de la semilla *Dolichus biflorus* que reaccionan específicamente con antígenos A1 provocando una reacción de aglutinación visible. (Daniels & Bromilow, 2010)

Locus: localización o dirección donde se halla un gen en un cromosoma. (Bailey-Wilson)

Nivel de confianza: parámetro de la estadística denominado “probabilidad”, que ayuda a comprobar que un método funciona, dándonos así un porcentaje de acierto productivo para la investigación o un verdadero valor del mismo. (Barón López & Téllez Montiel, 2004)

Postzona: efecto que impide la aglutinación o reacción inmunológica, cuando se presentan grandes cantidades de Antígenos.

Precisión: concordancia en el valor de varios resultados que fueron obtenidos bajo la misma técnica y que se emplearon para una misma muestra en la investigación. (Barón López & Téllez Montiel, 2004)

Prozona: Este efecto evade la aglutinación o reacción inmunológica, cuando se presentan grandes cantidades de Anticuerpos.

Reacción Hemolítica del Recién Nacido (HDFN): cuando la inmunoglobulina materna IgG, actúa frente al antígeno derivado del padre presente en las células rojas del feto, cruza la placenta y destruye las células. (Akkök, Haugaa, Galgerud, & Brinch, 2013) (Baptista-González, 2004)

Reacción Hemolítica por Transfusión (HTR): cuando un anticuerpo destruye un antígeno transfundido al identificarlo como incompatible. Por lo general ocurre con inmunoglobulinas de tipo IgM atacando al complejo de Compatibilidad (MHC). (Godinez, 2003)

Subgrupo: clasificación de las denominaciones o variantes del grupo sanguíneo. (Baez, 2000)

Termobloque: equipo seco de temperatura que ofrece una exactitud con sensor de referencia externo cuenta con una medición de temperatura interna. (Eppendorf-ThermoStat-plus, 2010)

Termohidrómetro: instrumento para la determinación de gravedad API, densidad y densidad relativa (gravedad específica) incluye un termómetro para medir la temperatura ambiente. (Termohidrómetro, 2000)

Transfusión: pasar a un individuo (humano o animal) a su sistema circulatorio hemocomponentes u otros fluidos mediante técnicas de donación y recepción de bancos de sangre. (Daniels & Bromilow, 2010)

Trasplante: proceso por el cual se toma un tejido u órgano e implantarlo en otro cuerpo o en otra parte del mismo cuerpo. (Daniels & Bromilow, 2010)

Zona de equivalencia: óptimas condiciones para una reacción inmunológica, cuando el antígeno y anticuerpo se encuentran en cantidades iguales. (Animal., 2009)

CAPITULO III

3.1 MARCO METODOLÓGICO

3.1.1 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1.1 Tipo de Estudio

Este estudio es de tipo descriptivo transversal puesto que se enfoca en la determinación de los subgrupos de A y AB para establecer la proporción de los mismos a nivel del Banco de Sangre en el Hemocentro de Cruz Roja Ecuatoriana de la ciudad de Quito, con una medición de tipo transversal y bajo un control observacional donde se escogerá el ensayo a realizar y se obtendrá una frecuencia evaluada durante un período de tiempo establecido desde junio hasta agosto del 2013.

3.1.1.2 Tipo de Muestreo

Se utilizó un muestreo aleatorio simple a nivel de los donantes tipificados como grupo A y AB.

3.1.1.3 Tamaño de Muestra

Se utilizó la fórmula de población infinita para determinar una proporción con un nivel de confianza del 95% y una precisión del 3% que se lo toma como promedio aplicable para la técnica en tubo. (Fernández P. , 2010).

$$n = \frac{Z^2_{\alpha} \times p \times q}{d^2}$$

Dónde:

Z^2_{α} : 1,96² (Nivel de confianza del 95%)

n : Tamaño de muestra

p : Proporción esperada (Porcentaje A 16,58% y AB 1,05% asumidos para el estudio)

q : 1 - p

d : Precisión del estudio 0,03 (Se optó por una precisión del 3%)

Muestra con 2decimales donde A= 16,58 y AB= 1,05 la cual fue tomada de la tesis (Ulloa, 2012). Tabla 3.3.1

$$n = \frac{1,96^2 \times 0,1658 \times (1 - 0,1658)}{0,03^2}$$

$$n = \frac{1,96^2 \times 0,0105 \times (1 - 0,0105)}{0,03^2}$$

Con 3 decimales numerador

$$n = \frac{3,8416 \times 0,1658 \times 0,8342}{0,0009}$$

$$n = \frac{3,8416 \times 0,0105 \times 0,9895}{0,0009}$$

Grupo A n= 590,37 = 590.

Grupo AB n= 44,35 = 44.

Tomando en consideración que los donantes son rechazados o diferidos por varias causas se ajustó el tamaño muestral a pérdidas mediante la siguiente fórmula:

$$n (1 / 1-R)$$

- n = número de sujetos sin pérdidas
- R = proporción esperada de pérdidas, en el caso del grupo A el diferimiento y rechazo suma un 18,3% y del grupo AB en un 21,8% (Herdoiza, 2013)

$$^{\circ}n \text{ "A"}=590 (1 / 1-0,183) \quad 590(0,817/1,22399021) = 722,15 = 722$$

$$^{\circ}n \text{ "AB"}=44 (1/ 1-0,218) \quad 44(0,782/1,27877238)= 56,27 = 56$$

Con un total de 778 donantes con tipo de sangre A o AB, para el estudio.

Decisión: Utilizando la fórmula de población infinita, y la aplicación del ajuste muestral bajo el criterio de donantes rechazados o diferidos por varios motivos se ajustó el tamaño de la muestra a pérdidas como se explica anteriormente y de acuerdo a los resultados obtenidos en la tesis denominada "Análisis retrospectivo de la frecuencia y tipo de anticuerpos irregulares en donantes voluntarios de sangre en el Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana – Quito – 2009-2012" (PUCE) , en la que se determinó una prevalencia de 16,58%de donantes que corresponde al grupo de sangre A y al 1,05%correspondientesal grupo AB reportado por Ulloa (Tabla 1); con un nivel de confianza del 95% y una precisión del estudio del 3%, obteniendo un total 722 donantes que corresponden al grupo A y 56 al grupo AB. (Arce, 2013)

Tabla 1. Porcentaje de donantes de sangre de acuerdo al grupo sanguíneo 2009-2012.

Sistema ABO	2009	2010	2011	2012	TOTAL 4 AÑOS
	%	%	%	%	%
A-	0,62	0,72	0,70	0,64	0,66
A+	14,11	16,39	17,22	16,26	15,92
AB-	0,27	0,16	0,05	0,08	0,14
AB+	0,66	1,00	1,03	0,99	0,91
B-	1,62	0,88	0,26	0,24	0,77
B+	4,44	6,00	7,21	6,86	6,09
O-	15,90	7,56	1,89	1,79	6,97
O+	62,37	67,28	71,64	73,14	48,66

Fuentes: tesis denominada “Análisis retrospectivo de la frecuencia y tipo de anticuerpos irregulares en donantes voluntarios de sangre en el Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana – Quito – 2009 - 2012” (Ulloa, 2012)

3.1.1.4 Criterios de Inclusión

Las muestras que entran al estudio serán todas aquellas extraídas de donantes voluntarios que lleguen al Hemocentro Nacional de la Cruz Roja Ecuatoriana, que presenten el tipo de sangre A y AB.

3.1.1.5 Criterios de Exclusión

Se excluirán todos aquellos donantes que presenten cualquier otro tipo de sangre que no sea A y AB o cuando son diferidos o rechazados como donantes por el Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana.

3.1.1.6 Control de Calidad

Todo el proceso analítico se encuentra detallado en el Manual Técnico de la AABB para el control de calidad de reactivos anti-A y A1, en base a esto se evaluará la afinidad, potencia y especificidad de los reactivos usados. (AABB, 2012) (Anexo 2)

También se controlarán diferentes tipos de errores como son los errores de origen organizativo como por ejemplo: errores en la transcripción de los resultados a los registros, sean estos informáticos o manuales, mediante el uso de libros de laboratorio y un doble chequeo en la transcripción de resultados.

Se obtuvo el permiso correspondiente para utilizar las muestras tomadas en el Hemocentro, se obtuvieron las muestras directamente de las pintas de sangre donadas y codificadas. No se tendrá contacto directo con los donantes y se obtendrán las características de los mismos a través del sistema de laboratorio interno que presenta el Hemocentro, denominado “Delfin”, donde luego de las entrevistas personales se registran los datos en el mismo. (Anexo 15).

3.1.1.7 Análisis Estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó estadística descriptiva analizada en el programa SPSS V.20. El principal objetivo de este estudio fue la obtención, organización, presentación y descripción de información recopilada para ser difundida a nivel del sistema nacional de sangre y pueda ser utilizada para la inclusión de esta determinación a nivel de los donantes que son tipificados como A y AB. Para la correlación entre dos variables se empleó el estudio de Pearson donde su teoría del “Chi-cuadrado” nos indica si existe una relación entre las variables, independientemente del grado o el tipo de relación, ni la influencia que hay entre las mismas. (Martínez Estrada, 2007)

3.1.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

TABLA 2: Operacionalización de las Variables

Variable Dependiente: frecuencia de subgrupos de A.

Variables Independientes: Donantes de sangre que acuden al Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana.

Variable Dependiente	Definición	Dimensiones	Indicadores	Instrumento de Medida
Subgrupos A	Al igual que los antígenos A y B, los fenotipos débiles de los mismos se hallan también en la superficie de la membrana del eritrocito, pero su expresión se la considera débil por la razón de que sus alelos presentan una o más mutaciones en su gen ABO, estas mutaciones se consideran “sustituciones de un solo nucleótido que conducen a un cambio de aminoácido”. (Chen, Tseng, Wang, & Sun, 2011)	Cualitativo	Frecuencia de subgrupo de A ₁ / Total de donantes con grupo A Frecuencia de subgrupos A ₂ / Total de donantes grupo A. Frecuencia de subgrupos A _{int} / Total de donantes grupo A. Frecuencia de subgrupos A1B/ Total de donantes grupo A. Frecuencia de subgrupos A2B/ Total de donantes grupo A. Frecuencia de subgrupos A _{int} B/ Total de donantes grupo A.	Pruebas de aglutinación en tubo en la que se observará la presencia o ausencia de aglutinación en el reactivo de lectina anti-A1 o en el reactivo anti-H
Variables Independientes	Definición	Dimensiones	Indicadores	Instrumento de Medida
Donantes	Individuo que voluntariamente opta por entregar sangre o cualquier órgano de su cuerpo para fines terapéuticos o cualquier otro estudio, el cuál debe gozar de buena salud y estado físico que no afecte al receptor ni al mismo como donante. (Lobato & Nguyen, 2009)	Cuantitativo	Total de donantes tipo A y/o AB aceptados/ Total de diferidos.	Parámetros de aceptación, consentimiento informado. (Anexo 1)
Sexo o género	Identificación fenotípica que diferencia a un hombre de una mujer	Cualitativo	Total de donantes femeninos/ Total de donantes. Total de donantes masculinos / Total de donantes.	Formulario de registro del donante, mediante programa Hemocentro Delfin
Edad	Tiempo de vida de un individuo expresado en años. Para este estudio se emplearán rangos de edad.	Cuantitativo	Total donantes entre las edades de 17 – 27 años/ Total donantes Total donantes entre las edades de 28 – 38 años/ Total donantes Total donantes entre las edades de 39 – 49 años/ Total donantes Total donantes entre las edades de 50 – 67 años/ Total donantes	Formulario de registro del donante, mediante programa Hemocentro Delfin
Procedencia	Lugar de nacimiento, de donde viene el individuo con sus raíces nativas	Cuantitativo	Total de donantes por provincias / Total donantes Hemocentro nacional	Formulario de registro del donante, base de datos programa Hemocentro Delfin

3.2 MATERIALES Y PROCESOS

3.2.1 Materiales

- Tubos de vidrio de 5 ml (12x75mm)
- Pipetas automáticas de 10 ul – 100 ul
- Puntas pequeñas para pipeta automática de 10 – 100 ul
- Serófuga marca Clay Addams (Hemocentro Nacional): 3000 rpm
- Timer 3 tiempos
- Pipetas pasteur de plástico
- Gradillas
- Lámpara de lectura con lupa para observar resultados
- Marcadores permanentes
- Termobloque a 37°C

3.2.2 Reactivos

Cloruro de sodio al 0.9% (solución salina al 0.9%) BAXTER

- Fecha de caducidad: 05/2015
- Temperatura de almacenaje: no Conservar A Temperatura Superior A 25° C
- Registro sanitario: 46394
- Volumen: 9 G por litro
- pH de 5,6 - 7,5
- Color: Incoloro
- Instructivo: suero fisiológico marca Baxter (clear-flex) 9 Mg/ml, solución para perfusión.
- Limitaciones: mantener fuera del alcance y vista de niños, no conservar a temperatura superior a 25°C, no utilizar suero fisiológico después de la fecha de caducidad. No debe recibir suero fisiológico si hay partículas flotando en la solución esto causa interferencias.

Anticuerpo Monoclonal Anti – A, marca ANTEC (AABO/010):

- Lote: 314022
- Fecha de caducidad: 11/2014
- Temperatura de almacenaje: +2° a +8°C
- Registro sanitario: AD-12140706

- Volumen: 10 ml 200 pruebas (50 ul cada prueba es decir 1 gota aprox.)
- pH: azida de sodio medio conservador ácido
- Color: Azul
- Instructivo: Procedimiento basado en el principio de aglutinación. Las células rojas poseen los antígenos que aglutinarán cuando sean probados con el correspondiente anticuerpo.
- Limitaciones: Resultados falsos positivos o negativos pueden ocurrir debido a una contaminación de los materiales de la prueba, concentración de células incorrectas centrifugación, incubación, temperatura o cualquier variación, del procedimiento recomendado. (Mautor, 2005)

Anticuerpo Monoclonal Anti – B, marca ANTEC

- Lote: 334032
- Fecha de caducidad: 12/2014
- Temperatura de almacenaje: +2° a +8°C
- Registro sanitario: AD-12140706
- Volumen: 10 ml 200 pruebas (50 ul cada prueba es decir 1 gota aprox.)
- pH: azida de sodio medio conservador ácido
- Color: Amarillo ácido (tartrazina)
- Instructivo: Procedimiento basado en el principio de aglutinación. Las células rojas poseen los antígenos que aglutinarán cuando sean probados con el correspondiente anticuerpo.
- Limitaciones: Resultados falsos positivos o negativos pueden ocurrir debido a una contaminación de los materiales de la prueba, concentración de células incorrectas centrifugación, incubación, temperatura o cualquier variación, del procedimiento recomendado. (Pujol, 2000)

Anticuerpo Monoclonal Anti – AB, marca DiaClon

- Lote: 10270.82.20
- Fecha de caducidad: 09/2014
- Temperatura de almacenaje: +2° a +8°C
- Registro sanitario: 10270

- Volumen: 10 ml 200 pruebas (50 ul cada prueba es decir 1 gota aprox.)
- pH: ácido
- Color: Incoloro
- Instructivo: Procedimiento basado en el principio de aglutinación. Las células rojas poseen los antígenos que aglutinarán cuando sean probados con el correspondiente anticuerpo.
- Limitaciones: Resultados falsos positivos o negativos pueden ocurrir debido a una contaminación de los materiales de la prueba, concentración de células incorrectas centrifugación, incubación, temperatura o cualquier variación, del procedimiento recomendado. (Martín González, Díaz Hernández, & García Alonso, 2000)

Anticuerpo Monoclonal Anti – A1, marca alba bioscience, extracto de las lectinas Dolichus biflorus contienen potente reactividad anti-A1 y son el reactivo más fiable para distinguir entre los grupos A1 y A2 de células rojas. (Sanquin, 2013)

- Lote: V121444
- Fecha de caducidad: 16/03/2014
- Temperatura de almacenaje: +2° a +8°C
- Registro sanitario: Z241
- Nombre: Lectin Dolichos biflorus
- Volumen: 5 ml 100 pruebas (50 ul cada prueba es decir 1 gota aprox.)

Anticuerpo Monoclonal Anti – H, marca BIO-RAD

- Lote: 11910
- Fecha de caducidad: 2014
- Temperatura de almacenaje: +2° a +8°C
- Registro sanitario: B000502
- Nombre: Anti - H Lectin
- Volumen: 5 ml 50 pruebas (100 ul cada prueba es decir 2 gota aprox.)

(Hernández Díaz, Bencomo Hernández, & Rivero Jimenez, 2000)

3.2.3 Procesos

3.2.3.1 Toma de muestra

Se obtuvo un segmento de la manguera de la pinta de sangre de los donantes que fueron aceptados de grupo sanguíneo A y AB, que cumplan con los criterios de inclusión. Las muestras que no se analizaron en ese día fueron guardadas a 4°C por un día en la Hemoteca del Hemocentro de Cruz Roja.

3.2.3.2 Método Directo en tubo

1. Enumerar los tubos: código de cada unidad de sangre.
2. Prepare una suspensión de eritrocitos del 3% en solución salina
3. Preparación de las muestras:
 - El lavado manual o automático de las células sanguíneas asegura que se eliminen en forma adecuada las globulinas, así mismo es importante eliminar por completo todas las proteínas plasmáticas que no se encuentran unidas a los eritrocitos. Es importante elegir una correcta dilución y obviamente medirla con mucha precisión para obtener resultados controlados. Basta con lavar 3 veces con solución salina (1:200) hasta que el sobrenadante aparezca claro. (Luberta Lugo, Leyva Torres, & Gallardo Rodriguez, 2002)
4. Preparación de la suspensión de células:
 - Realizar un lavado manual adecuado de células a ser utilizadas en el banco de sangre en pruebas inmunes.
 - Preparar soluciones de células rojas en una concentración del 3%
 - Colocar de 3 a 5 gotas (cada gota de 40 ul) de células rojas con 4ml de solución salina que tenga un pH de 5,6-7,5.
 - Centrifugar a 3000 rpm por 1 min y repetir el proceso 3 veces desechando el contenido y manteniendo el botón celular hasta terminar con una solución clara que representa el 3%. (Escamilla Guerrero, 2012)
5. Proceso de tipificación.
6. Colocar una gota de anti-A, anti – B, anti – AB, anti – A1, anti – H en el tubo rotulado correspondiente.
7. Al final de cada tipificación utilizar un tubo extra con células comerciales A1, B que asegure la tipificación correcta.
8. Coloque una gota de suspensión de eritrocitos en cada tubo.

9. Agite suavemente esperar 5 min en reposo.
10. Centrifugar 15 segundos a 3000 rpm.
11. Agite suavemente el tubo y re-suspenda el botón celular. Examine las reacciones resultantes macroscópicamente.

3.2.3.3 Método Inverso en tubo

1. Enumerar los tubos: código de cada tubo de sangre.
2. En el tubo colocar una gota del pool de células A1 Diacell ABO.
3. Añadir dos gotas del suero o plasma del paciente con tipo de sangre A2, en este caso utilizamos plasma con EDTA.
4. Incubar 5 min en el termobloque.
5. Centrifugar a 3000 rpm por 15 seg.
6. Agite suavemente el tubo y re-suspenda el botón celular.
7. Observar los resultados con la ayuda de la lámpara.

3.2.4 Control de Calidad

Prueba de Avidéz:

1. Enumerar las placas o portaobjetos: códigos de cada paciente
2. Sangre con EDTA o un segmento de manguera de la unidad de sangre.
3. Colocar 1 gotas de sangre total y 1 gota del reactivo.
4. Cronometrar desde el momento de la unión de la sangre y el reactivo
5. Observar el inicio de la aglutinación con la ayuda de la lámpara de lectura y anotar el tiempo en que se forma la aglutinación.

Prueba de Afinidad:

1. Enumerar los tubos: códigos de cada paciente
2. Preparar un suspensión de glóbulos rojos lavados al 3%
3. Colocar 1 gota de la suspensión junto con 1 gota de cada reactivo, respectivamente.
4. Incubar por 2 horas a temperatura ambiente.
5. Centrifugar a 3.000 rpm por 15 segundos.

6. Observar la aglutinación con la ayuda de la lámpara de lectura y anotar por cruces (+) la mayor aglutinación que llega a formarse.

Prueba de Potencia:

1. Enumerar los tubos: códigos de cada paciente
2. Preparar una suspensión de glóbulos rojos lavados al 3%
3. Preparar dilución con solución salina de cada reactivo individualmente desde 1:2 hasta 1:512
4. Colocar 2 gotas de la suspensión de eritrocitos en cada tubo de dilución que contenga 2 gotas del reactivo.
5. Centrifugar a 3.000 rpm por 15 segundos.
6. Observar la aglutinación con la ayuda de la lámpara de lectura y anotar la mayor dilución a la que llega cada reactivo en su aglutinación.

Prueba de Especificidad:

1. Enumerar los tubos: códigos de cada paciente
2. Preparar una suspensión de glóbulos rojos lavados al 3%
3. Colocar 2 gotas de la suspensión junto con 2 gotas de cada reactivo, respectivamente.
4. Incubar por 2 horas a temperatura ambiente.
5. Centrifugar a 3.000 rpm por 15 segundos.
6. Observar aglutinación en este caso, todos son específicos para el antígeno que se muestra en el reactivo.

Reactivo Anti-A: se evalúa la avidez, afinidad, especificidad y potencia de este reactivo utilizando células comerciales A1-A2Diacell ABO (Diapro) siguiendo el protocolo de la Dra Elena Franco (Franco, 2003). (Anexo 2)

Reactivo Anti-B: se evalúa la avidez, afinidad, especificidad y potencia de este reactivo utilizando células comerciales B Diacell ABO (Diapro) siguiendo el protocolo de la Dra Elena Franco (Franco, 2003). (Anexo 2)

Reactivo Anti-A1: se evalúa la avidez, afinidad, especificidad y potencia de este reactivo utilizando células comerciales B Diacell ABO (Diapro) siguiendo el protocolo de la Dra Elena Franco (Franco, 2003). (Anexo 2)

Células A1 y B comerciales: se evaluó la apariencia, características físicas y reacciones específicas con los antisueros correspondientes siguiendo el protocolo de la Dra Elena Franco (Franco, 2003).

CAPÍTULO IV

4.1 RESULTADOS

Tabla 4.1 Control de calidad del Reactivo Anti-A

	POTENCIA	AFINIDAD	AVIDEZ
Anti-A1	1/128	(++++)	3''
Anti-A2	1/64	(+++)	5''
Valores de referencia Franco, 2003 AABB, 2012	Dilución máxima 1/128 (A1) 1/64(A2) 1/128 (A1) 1/64(A2)	Reactivo no diluido (++++ Grumo completo bien formado (+++ grumo disperso Referencia de los dos autores	Reactivo sin diluir (2 a 3") A1 (3 a 5") A2 (AABB,2012)

Tabla 4.2 Control de Calidad del Reactivo Anti-B

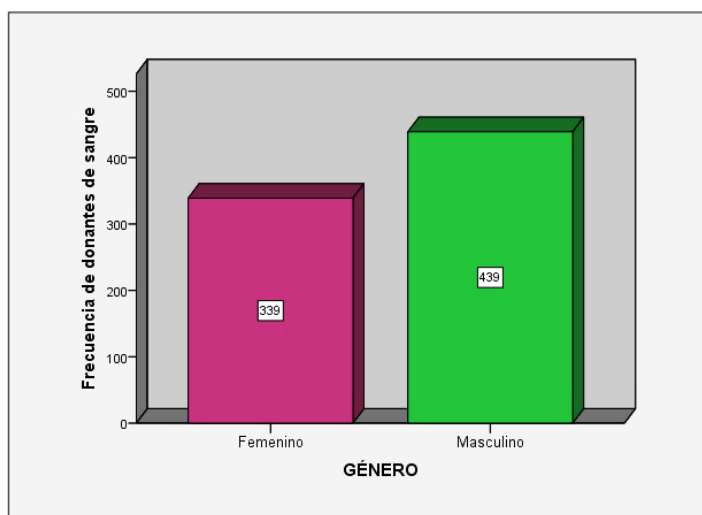
	POTENCIA	AFINIDAD	AVIDEZ
Anti-B	1/128	(++++)	3''
Valores de referencia Franco, 2003 AABB, 2012	Dilución máxima 1/128 (B) 1/128 (B)	Reactivo no diluido (++++ Grumo completo bien formado	Reactivo sin diluir (2 a 3") B (AABB,2012)

Tabla 4.3 Control de Calidad de Células A1 y B

	HEMOLISIS	AFINIDAD	TURBIDEZ
Células A Células B	Negativo Negativo	Anti-A (++++) Anti-A1 (++++) Anti-B (++++)	Ausencia Ausencia
Valores de referencia Franco, 2003 AABB, 2012	Inspección visual Sobrenadante claro Negativo	Anti-A (++++) Anti-B (++++) Respectivamente	Ausencia Sobrenadante claro

Análisis de la población: se analizó un total de 778 donantes de sangre portadores del Antígeno A, el 43,6% (339) mujeres y 56,4% (439) hombres, de los cuales el 92,8% (722) fueron clasificados como grupo A y el 7,2% (56) como AB (Gráfico 4.1 y 4.2)

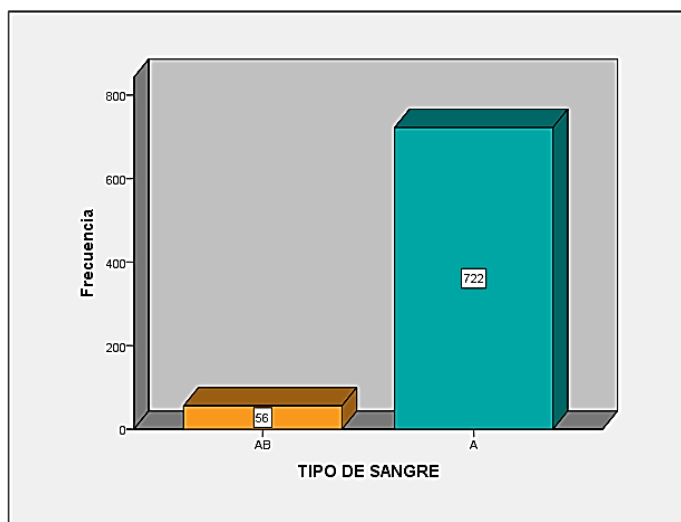
Gráfico 4.1 Total de donantes que intervinieron en el estudio.



El gráfico muestra la distribución de los donantes de acuerdo al género, observándose que el género masculino representa el 56,4% del total de donantes.

Fuente: Base de datos del autor.

Gráfico 4.2 Total de donantes de sangre clasificados de acuerdo al grupo sanguíneo.



El gráfico muestra la frecuencia del grupo sanguíneo determinándose que el grupo A es predominante sobre el AB con un 92,8%.

Fuente: Base de datos elaborada por el autor.

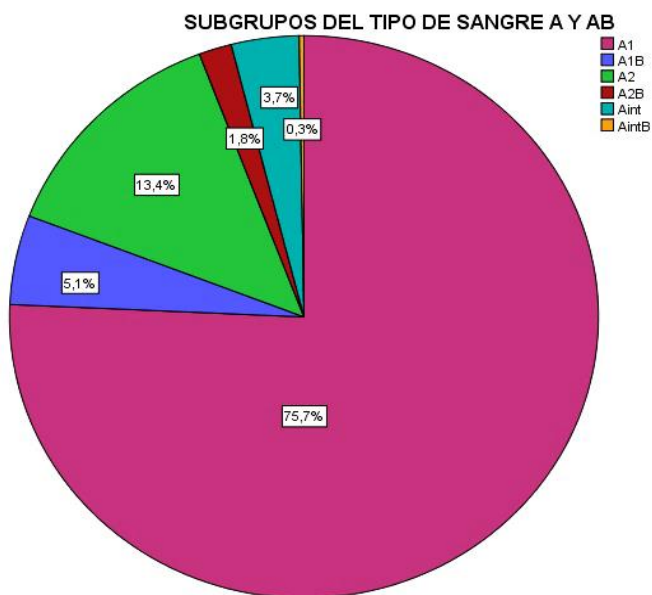
Frecuencia de Subgrupos del antígeno A: se determinó la existencia de subgrupos de A, siendo prevalente el A1 (75,7%), seguido del A2 (13,4%); en menor porcentaje A1B (5,1%) y A2B (1,8%); un hallazgo importante fue la existencia de subgrupos de A intermedio y Aintermedio B con una frecuencia del (3,7%) y(0,3%) respectivamente. (Tabla 4.4) y (Gráfico 4.3).

Tabla 4.4 Frecuencia de subgrupos del antígeno A

<i>SUBGRUPOS DE A</i>	<i>FRECUENCIA</i>	<i>PORCENTAJE</i>
A1	589	75,7
A1B	40	5,1
A2	104	13,4
A2B	14	1,8
Aint	29	3,7
AintB	2	0,3
Total	818	100.0

La tabla muestra la frecuencia de subgrupos de A, siendo el A1 el más frecuente seguido del A2 y A1B en donantes de sangre.

Gráfico 4.3 Porcentaje de subgrupos del antígeno A.



La figura muestra que el 75,7% de donantes tipificados como grupo sanguíneo A pertenecen al subgrupo A1.

También se correlacionó la presencia de subgrupos del antígeno A con el género y edad, determinándose que el subgrupo A1, A1B, A2 y Aint es más frecuente en el género masculino que en el femenino; sin embargo el subgrupo A2B es frecuente en mujeres y el AintB se encuentra en iguales proporciones. (Tabla 4.5)

Tabla 4.5 Frecuencia de Subgrupos del antígeno A en relación al género del donante de sangre.

Género	Subgrupos del antígeno A						
	A1	A1B	A2	A2B	Aint	AintB	
	(258)	(14)	(46)	(10)	(10)	(1)	339
Femenino	43.8%	35.0%	44.2%	71.4%	34.5%	50.0%	43.6%
	(331)	(26)	(58)	(4)	(19)	(1)	439
Masculino	56.2%	65.0%	55.8%	28.6%	65.5%	50.0%	56.4%
	(589)	(40)	(104)	(14)	(29)	(2)	(778)
Total	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%

La tabla muestra el porcentaje de los diferentes subgrupos del antígeno A en donantes tipificados inicialmente como grupo sanguíneo A, siendo el grupo A1, A2, A1B y A intermedio más frecuente en hombres que en mujeres.

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6,653 ^a	5	,248
Razón de verosimilitudes	6,722	5	,242
N de casos válidos	778		p>0,05

Al analizar la significancia se determinó que: no existe una correlación entre el subgrupo de A con el género $p>0.05$

Al analizar la frecuencia de los subgrupos de A con la edad se estableció que se encuentran distribuidos de manera aleatoria o al azar no existe un patrón determinado, adicionalmente se debe considerar que la población de donantes disminuye con la edad debido al requerimiento establecido en el manual denominado “elegibilidad del donantes OMS/OPS”, sin embargo este análisis es importante para alertar a los donantes entre 17-39 años de la posibilidad de una aloinmunización especialmente en mujeres debido a los factores de riesgo como embarazos, abortos y/o transfusiones (Tabla 4.6)

Tabla 4.6. Frecuencia de subgrupos del antígeno A de acuerdo a la edad del donante.

Grupos Etarios		A1	A1B	A2	A2B	Aint	AintB	Total
Edad	17-27	(224)	(15)	(39)	(8)	(9)	(0)	(295)
		38.0%	37.5%	37.5%	57.1%	31.0%	0.0%	37.9%
	28-38	(173)	(6)	(37)	(3)	(7)	(2)	(228)
		29.4%	15.0%	35.6%	21.4%	24.1%	100.0%	29.3%
	39-49	(109)	(8)	(21)	(2)	(8)	(0)	148
		18.5%	20.0%	20.2%	14.3%	27.6%	.0%	19.0%
	59-69	(83)	(11)	(7)	(1)	(5)	(0)	118
		14.1%	27.5%	6.7%	7.1%	17.2%	.0%	14.4%
Total		(589)	(40)	(104)	(14)	(29)	(2)	(778)
		100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

La tabla muestra la distribución de subgrupos de A de acuerdo a la edad del donante aspecto importante por la probabilidad de aloinmunización, especialmente en donantes en edad fértil 17-39 años.

Adicionalmente se analizó la distribución de los subgrupos del antígeno eritrocitario A de acuerdo a la procedencia de los donantes encontrándose que el subgrupo A1 es el único que encontramos en todas las provincias estudiadas, mientras que el subgrupo AintB solo se encontró en la provincia de Pichincha; en cuanto a los subgrupos restantes A2, Aint, A1B y A2B presentan una distribución en las provincias de Pichincha, Imbabura y Santo Domingo, estos datos permiten una orientación sin embargo se debe considerar que los donantes son mayoritariamente de la provincia de Pichincha (Tabla N°4.7).

Tabla N°4.7. Frecuencia de subgrupos del antígeno A por provincia

		Esmeraldas	Imbabura	Pichincha	Sto. Domingo	Tulcán	Total
Subgrupos de A	A1	(3) 100%	(26) 74.3%	(529) 76.9%	(30) 58.8%	(1) 100.0%	(589) 75.7%
	A1B		(2) 5.7%	(31) 4.5%	(7) 13.7%		(40) 5.1%
	A2		(3) 8.6%	(94) 13.7%	(7) 13.7%		(104) 13.40%
	A2B		(3) 8.6%	(10) 1.5%	(1) 2.0%		(14) 1.80%
	Aint		(1) 2.9%	(22) 3.2%	(6) 11.8%		(29) 3.70%
	AintB			(2) 0.3%			(2) 0.30%
Total							100%

La tabla muestra la distribución de subgrupos de A en relación a la procedencia del donante de sangre, determinándose la existencia del grupo A1, A2, Aint, A1B y A2B en Pichincha, Santo Domingo e Imbabura con mayores porcentajes, siendo la correlación significativa $p < 0.05$.

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	30,928 ^a	20	,050
Razón de verosimilitudes	22,571	20	,310
N de casos válidos	778		

Al analizar la presencia de anticuerpo en los donantes de sangre que presentaron diferentes subgrupos de A, se determinó que solamente uno donante de género masculino de 21 años se encontró aloinmunizado probablemente porque recibió una transfusión sanguínea incompatible. (Tabla 4.8).

Tabla 4.8 Presencia de aloanticuerpos anti-A1 en donantes con subgrupos del antígeno A

POOL SANGRE A1 DIACELL ABO		
Donantes Subgrupos del antígeno A	Negativo Anti-A1	Positivo Anti-A1
Femenino		
A1	13	0
A2	12	0
Aint	3	0
Masculino		
A1	13	0
A2	14	1
Aint	4	0
Total general	59	1

La tabla muestra los resultados obtenidos al colocar suero del donante más células de Diacell ABO tipo A1, determinándose que el 98% de donantes no se encuentra aloinmunizado, pudiendo prevenirse mediante la información proporcionada al donante.

4.2 DISCUSIÓN

Desde el 2009, el Ecuador cuenta con un Hemocentro de Cruz Roja ubicado en Carapungo en la ciudad de Quito, con instalaciones adecuadas bajo estándares óptimos de calidad, en este lugar se reciben muestras de donantes de sangre de varias provincias del Ecuador; estas son procesadas, identificadas, y separados todos sus hemocomponentes, obteniendo así paquetes de donación de glóbulos rojos leucorreducidos, plaquetas y crioprecipitados, con la ayuda de equipos de la más alta tecnología y junto con la implementación de nuevos procedimientos automatizados se analizan todas las muestras al 100%, realizando exámenes de serología, inmunología, tipificación, y hasta con fines investigativos con el fin de ir modernizando y actualizando la medicina transfusional del país. (Cruz Roja, 2010).

Los métodos para la selección y clasificación de sangre como es tipificación directa, tipificación inversa, rastreo de anticuerpos e identificación de anticuerpos irregulares, son los procesos comunes que se realizan en el Hemocentro Nacional, sin embargo no se realiza la tipificación de los subgrupos de sangre A y AB, dentro de la rutina de trabajo, debido a que los anticuerpos anti-A1 fueron considerados como aloanticuerpos es decir que se producen luego de un contacto previo en el 1% de las personas consideradas como A2, este porcentaje no era considerado como significativo en la población ecuatoriana, además al tratarse de una aglutinina fría sin importancia clínica no requería ser analizada, sin embargo con la migración, los perfiles epidemiológicos pueden cambiar de ahí la importancia de determinar la frecuencia de los subgrupos. (AABB, 2012)

Adicionalmente se han realizado varios estudios en los que se establece la importancia de los subgrupos del antígeno A tanto en reacciones pos transfusionales, anemia hemolítica del recién nacido como en trasplantes renales y células madre por la inmunogenicidad que presentan estimulando la producción de anticuerpos anti-A1 (Akkök, Haugaa, Galgerud, & Brinch, 2013). Un caso de aloinmunización por transfusión de sangre incompatible fue reportado luego de que el paciente recibió una segunda transfusión de sangre AB, al inició no sufrió ninguna reacción hemolítica, sin embargo al recibir nuevamente sangre incompatible presentó una anemia hemolítica por la presencia del anticuerpo IgG anti-A1 desarrollado en la primera transfusión. (Chaudhary & Sonkar, 2004)

Otro aspecto que debe ser considerado es la escasa investigación de los antígenos eritrocitarios y la falta de reactivos que existe en el país para realizar una fenotipificación extensiva es decir que el donante o las personas conozcan todo su grupo sanguíneo que no solamente está limitado a ser ABO y Rh (D) positivo o negativo, constituyendo esto una de las causas para que los donantes tengan una aloinmunización del 35% mayor a la reportada en la literatura. (Ulloa, 2012)

El estudio realizado en la ciudad de Cuenca determinó una prevalencia del 81% de subgrupos A1, mayor al detectado en el presente estudio que fue del 75,7%. No se detectaron subgrupos A2 ni A1B y A2B el autor menciona una falta de reactivos para investigar los subgrupos mencionados. (Gordillo & Guzmán, 2011)

En el presente estudio se determinó la existencia del subgrupo A1 con un 75,7%, seguido del A2 con 13,4%; en menor porcentaje A1B con 5,1%, A2B con 1,8% y un hallazgo importante fue la existencia de subgrupos de A intermedio y AintermedioB con una frecuencia del 3,7% y 0,3% respectivamente lo que confirma que en la población ecuatoriana existe una variabilidad del grupo sanguíneo "A". Se definen como A intermedio (Aint) a los hematíes que comparten características de los de tipo A1 y A2 siendo más frecuentes en la raza negra que en la caucásica, en este estudio se detectó una prevalencia del 3,7%, al igual que el estudio realizado en Cuba (Matos Bayeou, 2011), esta variante del grupo A es relevante en los estudios de inmunogenética poblacional, contribuyendo al conocimiento del mestizaje poblacional con la raza negra. (García Rosascos, Lippi, & Valverde, 2001)

También se debe considerar que la presencia de variantes débiles del grupo sanguíneo A representan un desafío en la práctica de Inmunohematología por las discrepancias en el momento de la tipificación (Shamee Shastry, 2010), es común en bancos de sangre realizar una tipificación directa e inversa con el objetivo de confirmar el grupo sanguíneo; sin embargo no todas las personas que presentan un subgrupo A2 han desarrollado anticuerpos anti-A1, por lo que es difícil su detección. (AABB, 2012)

El anticuerpo anti-A1 es generalmente una aglutinina fría que aparece de forma atípica en el suero de individuos A2 o A2B carentes de este antígeno; sin embargo en casos de aloinmunización se produce un anticuerpos de tipo IgG de significancia clínica, siendo muy común luego de una transfusión sanguínea o durante el embarazo, en este momento se convierte en un anticuerpo productor de reacciones hemolíticas, por lo que es necesario que

el donante y/o paciente conozca su verdadero subgrupo para evitar una aloinmunización innecesaria. (AABB, 2012)

En la literatura existen reportes de aloinmunización en pacientes de subgrupos A que recibieron trasplantes renales o células madres de un grupo sanguíneo diferente y desarrollaron varios grados de hemólisis; así también existe estudios sobre enfermedad hemolítica del recién nacido producido en madres de tipo sanguíneo A2 con hijos A1. (Akkök, Haugaa, Galgerud, & Brinch, 2013) (Daniels & Bromilow, 2010)

Los anticuerpos anti-A1 se encuentran entre el 1% y 2% en las personas A2, y el 25% de las A2B (Godínez, 2003); en este estudio se determinó un porcentaje del 1%, el 99% restante no están aún aloinmunizados por lo que es importante la prevención siendo esta lograda a través de la comunicación de la presencia de subgrupos de A.

En el análisis de distribución por edades de subgrupos de A se determinó que entre los 17 y 39 años existen variantes de A en un 38,0% y 28,9% respectivamente (Tabla 4.6), siendo un dato importante por ser el grupo etario joven, donde se encuentran los donantes que pueden convertirse en voluntarios-repetitivos, adicionalmente son mujeres en edad reproductiva, todas estas variables se convierten en factores de riesgo para una aloinmunización ya sea por una transfusión sanguínea o un embarazo; la respuesta inmune que se produce frente a antígenos del sistema ABO termina en una activación del complemento ocasionando una reacción hemolítica que puede ser leve o grave (Chaudhary & Sonkar, 2004) (AABB, 2012) (Arbeláez, 2009). La incompatibilidad durante el embarazo del sistema ABO constituye un problema hematológico frecuente que va a afectar al recién nacido, en varias ocasiones suele ser benigno pero si la madre ha sido aloinmunizada anteriormente puede ocasionar anemia hemolítica del recién nacido. (García Rosascos, Lippi, & Valverde, 2001) (Arbeláez, 2009)

También se relacionó la presencia de subgrupos de A con la procedencia, encontrándose un porcentaje del 100% de A1 en donantes procedentes de Esmeraldas y un 76,9% en Pichincha, existiendo una distribución de casi todas las variantes de A en la provincia de Imbabura a excepción del subgrupo AintB, estos datos están relacionados con los reportados en la literatura que mencionan que los subgrupos de A son más comunes en la raza negra que en la caucásica (García Rosascos, Lippi, & Valverde, 2001). En la provincia de Imbabura se estima que se asienta el 3,6% de la población negra, 2,0% mulatos y a nivel país el 75%

de mestizos. (INEC-EMEDINHO, 2000) Los resultados de las variantes de los subgrupos encontrados corroboran con lo que menciona García “mestizaje o mezcla poblacional”. (García Rosascos, Lippi, & Valverde, 2001)

Todos estos análisis demuestran la importancia de incluir la detección de subgrupos del antígeno A en los donantes, con el fin de prevenir una aloinmunización y en mujeres evitar una anemia hemolítica del recién nacido (Daniels & Bromilow, 2010).

4.3 CONCLUSIONES

- La frecuencia de subgrupos del tipo de sangre A y AB fue de 75,7% para el subgrupo A1 el cual prevaleció sobre todos los subgrupos sanguíneos a estudiar, seguido del A2 con un 13,4%.
- La frecuencia de subgrupos de A1B fue de un 5,1%, mientras que el A2B un 1,8% determinándose así que existe una gran variabilidad de subgrupos de A en el país.
- Un hallazgo importante fue la existencia de subgrupos de Aintermedio y AintermedioB con una frecuencia del 3,7% y 0,3% respectivamente en donantes voluntarios del Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana, de junio a agosto del 2013.
- Se determinó un porcentaje mayor del antígeno A1 en hombres con 56,4% que en mujeres con 43,6%, sin embargo el grupo AintermedioB se distribuyó de igual manera en ambos géneros, mientras que el Aintermedio en mujeres representó el 34,5% y en hombres el 65,5%, este dato corrobora que existe un mestizaje poblacional.
- También se observó que la distribución de subgrupos de A dentro del grupo etario oscila en las edades consideradas “fértil” por lo que el riesgo de aloinmunización es elevada, la correcta tipificación del grupo sanguíneo evitará y prevendrá la producción de aloanticuerpos de significancia clínica.
- De acuerdo a la procedencia del donante se determinó que existe una gran variabilidad de subgrupos A, principalmente en la provincia de Pichincha con un total de 688 donantes, seguido de la provincia de Santo Domingo con 51, Imbabura con 35, Esmeraldas con 3 casos y Tulcán con 1 caso; que de acuerdo al censo realizado en el año 2010 demuestra que existe una migración importante de las personas de provincias a la ciudad y viceversa.
- Además la distribución de los subgrupos A2, A2B, A1B y Aintermedio se localizaron preferentemente en 3 provincias y el A intermedio B sólo en la provincia de Pichincha debido a la migración.
- Se encontró la presencia de anticuerpos anti-A1 en un donante de género masculino, esto resulta ser poco común en hombres ya que por los factores de riesgo a los que están expuestas mayormente las mujeres, éstas suelen tener mayor riesgo de aloinmunización que los donantes restantes, por lo que estas pruebas ayudan a prevenir este tipo de problemas.

4.4 RECOMENDACIONES

- Se recomienda implementar la tipificación de los subgrupos de los diferentes tipos de sangre en el laboratorio de rutina, sea bien bajo la técnica en tubo, como bajo otros métodos como tarjetas de gel o secuenciación por PCR.
- Se recomienda informar a los donantes que presenten subgrupos de A y AB la importancia de conocer sobre los mismos, es para evitar una aloinmunización innecesaria, además de la información física bajo la entrega del carnet donde conste su tipo de sangre y subgrupo del mismo lo cual debe ser informado antes de recibir una transfusión sanguínea.
- Se recomienda implementar estas pruebas en las provincias que presentan un mayor porcentaje de variantes de subgrupos de A como es la de Pichincha, Imbabura y Santo Domingo.
- Se recomienda al Hemocentro y al Programa Nacional de Sangre del Ministerio de Salud Pública que se implemente esta nueva determinación de subgrupos de A de beneficio para la población ecuatoriana.

4.5 ANEXOS

Anexo 1: Formulario de Consentimiento Informado

**Escuela de Bioanálisis
Pontificia Universidad Católica del Ecuador
Formulario de Consentimiento Informado.**

Investigador: Katherine Parra

Director de Tesis: Rosa Chiriboga P, MPH.

Nombres _____

Apellidos _____

Objetivo del Proyecto: La determinación de los diferentes grupos sanguíneos A, B, O y su factor Rh, han sido una gran ayuda en cuanto a transfusiones, donaciones de sangre, órganos, células madre y hasta en el embarazo. Los resultados obtenidos en estos análisis aportan a la persona un dato adicional y muy importante como es el tipo de sangre. Si bien es cierto nuestro tipo de sangre no representa un simple antígeno localizado en la membrana del eritrocito (A, AB, B, O), sino un conjunto de fenotipos en este caso se va a investigar los fenotipos de A (A₁, A₂, A₁B, A₂B, entre otros) esto aporta una información adicional que podrá ayudarlo a prevenir problemas futuros durante una transfusión de sangre o en el embarazo.

Participación voluntaria: El participar en este proyecto, requiere de su única y exclusiva decisión, es decir nadie decidirá sobre usted, menos aún se pondrán cualquier tipo de presión u obligación. No existirá sanción si usted decide no participar y tampoco se le retirará el derecho de donar sangre. Es muy importante que se comprenda en su totalidad el objetivo de este proyecto para así poder tomar una decisión. Y si acepta participar firme a continuación y se le tomara la muestra para ser procesada (sin costo alguno) y próximamente se le indicará los resultados obtenidos para su mejor conocimiento

Actividades: Personal entrenado tomará luego de su donación de sangre una muestra en un tubo adicional aproximadamente 2ml (dos cucharaditas) para realizar el análisis.

Confidencialidad: Todas las muestras tendrán un código de tal manera que los resultados estarán desligados a su nombre y podrán ser compartidas la información para conocimiento del Hemocentro Norte y la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Riesgos: El único riesgo que presenta este proyecto es la molestia del pinchazo en el momento de tomar la muestra y que podría llevar unos cuantos minutos de su tiempo.

Beneficios: Se beneficiará al conocer su tipo de sangre A o AB con su debido subgrupo sanguíneo.

Declaración general de consentimiento: Al firmar a continuación declaro que acepto las condiciones de los investigadores así mismo permito la manipulación de mi muestra de sangre con todas las normas adecuadas de manejo y calidad en el laboratorio, con el objeto de que me hagan saber sobre los resultados obtenidos.

Firma del participante _____
2013

Fecha: _____ de ____ del

Firma del testigo (en caso de analfabetismo) _____
2013

Fecha: _____ de ____ del

Si tiene preguntas sobre esta investigación por favor comuníquese con el Máster, Rosa Chiriboga Ponce, CIEI Universidad Católica del Ecuador. Ave. 12 de Octubre 1076 y Roca. Tel. (02) 299 1700 ext. 1680. Fax. (02) 299 1689 Email: rfchiriboga@puce.edu.ec.

Anexo 2: Protocolo de Control de Calidad de Reactivos ABO y células A1-B

CUADRO 2. Control de la calidad de los reactivos. Hematíes

Parámetros que se deben controlar	Requisitos cualitativos	Frecuencia de los controles
Apariencia	Ausencia de turbidez o hemólisis en el sobrenadante por examen visual	Diaria
Reactividad y especificidad	Reacciones claras con sueros seleccionados frente a los antígenos eritrocitarios	Cada nuevo lote, el primero y último día de vida

CUADRO 4. Control de calidad de los reactivos. Sueros ABO

Parámetros que se deben controlar	Requisitos cualitativos	Frecuencia de los controles
Apariencia	Ausencia de hemólisis, precipitación, partículas, o formación de gel detectables mediante examen visual	Cada nuevo lote
Reactividad y especificidad	Ausencia de hemólisis inmune, formación de <i>rouleaux</i> o fenómeno de prozona Reacciones claras con los hematíes portadores del antígeno correspondiente Ausencia de reacciones falsas	Cada nuevo lote
Potencia	El suero no diluido debe producir una reacción de 3+ a 4+ en medio salino con hematíes al 3% a temperatura ambiente. Su titulación debe ser de 1/128 para al anti-A, anti-B, y anti-AB con hematíes A ₁ y B, y de 1/64 con hematíes A ₂ y A ₂ B	Cada nuevo lote

Fuente: El control de la calidad de los análisis inmunohematológicos en la Región de las Américas Dra. Elena Franco, 2013

Anexo 3:Formulario Hemocentro Nacional para donación voluntaria

Grupo Sanguíneo

TURNO Nro.

SECRETARÍA NACIONAL DE BANCOS DE SANGRE

BANCO DE SANGRE

FECHA



CIUDAD

PROVINCIA

Estimado donante le agradecemos por su gesto solidario al acercarse a dar su sangre de manera altruista voluntaria para ayudar a salvar hasta 4 vidas por cada donación. De la información que usted honestamente nos brinde depende la seguridad de la sangre que nosotros entregamos a quien lo necesita. Es por esto que a su sangre se le realizarán algunas pruebas de laboratorio para investigar la presencia de posibles enfermedades e infecciones transmisibles por la sangre. Le recordamos que nuestro compromiso es mantener absoluta reserva y confidencialidad de la información que obtengamos del cuestionario, chequeo médico, interrogatorio y pruebas de laboratorio.

Si usted cree que su sangre no debe ser usada, por favor comunique a quien lo examine para mayor información o tome usted la decisión de no donar. También debe saber que es posible que alguna parte de su sangre no sea usada y que podría desecharse. Si usted ha decidido ser donante, tenga la seguridad que su sangre esta bien utilizada.

BIENVENIDO AL GRUPO DE DONANTES VOLUNTARIOS ALTRUISTAS Y REPETITIVOS QUE SALVAN VIDAS

DATOS PERSONALES

Apellidos Nombres
 Estado civil Lugar y Fecha de Nacimiento
 CI o pasaporte Lugar y dirección de su domicilio
 Ocupación Lugar y dirección de su trabajo
 Edad Teléfono /Celular
 E-mail Sexo

CUESTIONARIO

MARQUE CON ☒ SU RESPUESTA

El objetivo de este interrogatorio al que usted se somete voluntariamente, pretende preservar la salud del enfermo que recibe su sangre.

- | | | DIA | MES | AÑO | |
|----|--|-----|-----|-----|----|
| 1 | Indique la fecha y lugar de su última donación..... Ciudad | | | | 1 |
| 2 | ¿ Esta usted dispuesto a donar sangre ? | SI | NO | | 2 |
| 3 | ¿ Ha sido impedido de donar sangre alguna vez? | SI | NO | | 3 |
| 4 | ¿ Ha sufrido algún pinchazo o corte con objetos cortopunzantes en los últimos 12 meses ? | SI | NO | | 4 |
| 5 | ¿ Ha tenido Hepatitis, se han puesto sus ojos o piel amarillos (ictericia) o ha estado en contacto con pacientes con hepatitis ? | SI | NO | | 5 |
| 6 | ¿ Usted o su pareja recibieron sangre o componente, o trasplante de órganos en los últimos doce meses? | SI | NO | | 6 |
| 7 | ¿ Se ha hecho tatuajes, orificios, piercings, maquillaje permanente, acupuntura o mesoterapia en los últimos doce meses? | SI | NO | | 7 |
| 8 | ¿ Ha tenido Dengue, Paludismo o Chagas? | SI | NO | | 8 |
| 9 | ¿ Ha estado en tratamiento dental en los últimos tres días? | SI | NO | | 9 |
| 10 | ¿ Ha recibido algún medicamento en el último mes ? | SI | NO | | 10 |
| 11 | ¿ Ha tomado Aspirina, analgésicos y/o antiinflamatorios en los últimos tres días ? | SI | NO | | 11 |
| 12 | ¿ Sufre de ataques epilépticos, mareos o pérdida de conocimiento ? | SI | NO | | 12 |
| 13 | ¿ Presenta al momento alguna alergia ? | SI | NO | | 13 |
| 14 | ¿ Sufre de los pulmones, riñones, hígado, sangre, corazón u otros ? | SI | NO | | 14 |
| 15 | ¿ Sufre de diabetes, tuberculosis u otra enfermedad crónica? | SI | NO | | 15 |
| 16 | ¿ Le han operado o realizado algún tipo de intervención o procedimiento médico en los últimos doce meses? | SI | NO | | 16 |
| 17 | ¿ Usted o su pareja habitualmente consumen alcohol, tabaco, medicamentos o drogas? | SI | NO | | 17 |
| 18 | ¿ Ha observado la presencia de nódulos, tumores o secas en alguna parte de su cuerpo? | SI | NO | | 18 |
| 19 | ¿ Ha sido vacunado en los últimos doce meses? | SI | NO | | 19 |
| 20 | ¿ Tiene usted vida sexual activa? | SI | NO | | 20 |
| 21 | ¿ Ha estado detenido en alguna cárcel en los últimos doce meses? | SI | NO | | 21 |
| 22 | ¿ Ha estado fuera del país en los últimos doce meses? | SI | NO | | 22 |
| 23 | ¿ Tuvo o fue tratado de sífilis o gonorrea en los últimos doce meses? | SI | NO | | 23 |
| 24 | ¿ En los últimos doce meses le pagó a alguien para tener relaciones sexuales? | SI | NO | | 24 |
| 25 | ¿ En los últimos doce meses tuvo relaciones sexuales con alguien que usaba drogas? | SI | NO | | 25 |
| 26 | ¿ Alguna vez recibió dinero o drogas para tener relaciones sexuales? | SI | NO | | 26 |
| 27 | ¿ En los últimos doce meses tuvo usted o su pareja relaciones sexuales con otras personas? | SI | NO | | 27 |
| 28 | ¿ Recibió usted dinero o alguna compensación para donar sangre? | SI | NO | | 28 |
| 29 | ¿ Ha recibido hormona de crecimiento o tuvo usted o algún pariente la enfermedad de Creutzfeld-Jacob(enfermedad de vacas locas)? | SI | NO | | 29 |
| 30 | ¿ Dona usted sangre solamente para que se le haga el análisis de VIH o SIDA ? | SI | NO | | 30 |
| 31 | ¿ Leyó y comprendió este cuestionario y fueron contestadas todas las dudas al respecto? | SI | NO | | 31 |

EXCLUSIVAMENTE PARA MUJERES

- | | | | | | |
|----|--|----|----|--|----|
| 32 | ¿ Está usted embarazada o da de lactar? | SI | NO | | 32 |
| 33 | ¿ Fecha de su última menstruación? día mes año | | | | 33 |
| 34 | ¿ Tuvo un parto, aborto o cesárea en los últimos doce meses? | SI | NO | | 34 |

Yo, declaro que la información confidencial que he proporcionado es verdadera y en caso contrario asumo toda responsabilidad. Además autorizo a que se realicen los exámenes necesarios, incluyendo VIH para el uso de mi sangre y estoy informado acerca de las reacciones indeseables que puedan presentarse con la donación de sangre. Para constancia de lo antes dicho, firmo.

.....
 Firma del donante o huella digital

Número de cédula de identidad

MUCHAS GRACIAS, SU SANGRE NOS AYUDARA A SALVAR VIDAS.

FOS - 10

POSTDONACION O AUTOEXCLUSION

LUEGO DE LA INFORMACION RECIBIDA ¿ CONSIDERA USTED QUE SU SANGRE ES BUENA PARA

Para uso exclusivo del Banco de Sangre

Código de la bolsa	# donante	Hto/Hb	T.A / pulso	Peso	Temperatura	Donación repetitiva número	Firma Responsable	Tipo de donación			
								Donante Voluntario	COMPENSADOR		
								UNIDAD HOSPITALARIA	SALA	NOMBRE PACIENTE	FERESIS

OBSERVACIONES

ACEPTADO

☐

RECHAZADO

☐

DIFERIDO

☐

MARCA

Aspecto general del donante sano si no
 Brazos sin lesión de agujas si no
 Actividad peligrosa post donación si no
 Flebotomía del brazo izquierdo derecho
 Punción única varias
 Hora de inicio
 Hora de finalización
 Realizada por
 Reacción post donación no si / cual

TIPO DE BOLSA

SIMPLE
 DOBLE
 TRIPLE
 CUADRUPLA
 OPTI

REACCIONES ADVERSAS Y TRATAMIENTO

AUTORIZACION PARA MENORES DE EDAD MAYORES A 17 AÑOS Y ANALFABETOS

Yo,
 como testigo de Sr.(a) (ta)
 le lei con sus respuestas , llene los datos de la ficha del donante, informandole también de los riesgos de la donación.

Firma del testigo

Huella digital y/o nombre del donante

C.I.


C.I.

Fecha:

AUTOEXCLUSIÓN

Nº de bolsa:

Anexo 4: Temperatura Termohidrómetro

 Cruz Roja Ecuatoriana HEMOCENTRO NACIONAL CONTROL DE TEMPERATURAS						Código: F-IFR01-01	
						Versión: 01	

MES:	FEBRERO	AÑO: 2014
------	---------	-----------


EQUIPO	TERMOHIDROMETRO	TEMPERATURA
CODIGO ACTIVOS FIJOS	10077413C1	AMBIENTE
UBICACIÓN	RECHEQUEO	RANGO DE OPERACIÓN: De 18°C a 24°C
PROCESO	RECHEQUEO	

Dia	Registro de Temperatura (°C)						OBSERVACIONES
	1era. Toma		2da. Toma		3era. Toma		
	Hora	Responsable	Hora	Responsable	Hora	Responsable	
	8H30	HTM/COURT	12H00	HTM/COURT	16H00	HTM/COURT	
1	SABADO	—	—	—	—	—	
2	DOMINGO	—	—	—	—	—	
3	20.2	MG	21.3	MG	24.1	MG	
4	21.6	MG	22.6	MG	24.6	MG	
5	19.9	MG	22.1	MG	23.5	MG	
6	20.3	MG	21.9	MG	25.0	MG	
7	20.4	MG	23.4	MG	24.7	MG	
8	SABADO	—	—	—	—	—	
9	DOMINGO	—	—	—	—	—	
10	20.5	MG	24.3	MG	24.5	MG	
11	21.4	MG	23.1	MG	25.0	MG	
12	22.1	MG	22.8	MG	24.3	MG	
13	20.7	MG	21.2	MG	25.6	MG	
14	21.2	MG	24.8	MG	24.3	MG	
15	SABADO	—	—	—	—	—	
16	DOMINGO	—	—	—	—	—	
17	20.1	MG	22.3	MG	23.1	MG	
18	20.4	MG	21.9	MG	23.5	MG	
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							
26							
27							
28							
29							
30							
31							

CORRECCION
1.- Si la Temperatura es ≤ a 17°C o ≥ a 25°C, se solicita apoyo a mantenimiento, si el problema persiste se genera una solicitud de mantenimiento y detallar en observaciones

Fecha Revisión: 26-11-2012

Anexo 5: Temperatura Termobloque

 Cruz Roja Ecuatoriana HEMOCENTRO NACIONAL CONTROL DE TEMPERATURAS	Código: F-IFR01-01
	Versión: 01

MES:	FEBRERO	AÑO: 2014
------	---------	-----------

EQUIPO	TERMOBLOQUE	
CODIGO ACTIVOS FIJOS	10077411C7	
UBICACIÓN	RECHEQUEO	RANGO DE OPERACIÓN:
PROCESO	RECHEQUEO	De 36.9°C a 37°C

Día	Registro de Temperatura (°C)						OBSERVACIONES
	1era. Toma		2da. Toma		3era. Toma		
	Hora	Responsable	Hora	Responsable	Hora	Responsable	
	8H30	H.BETANCOURT	12H00	H.BETANCOURT	16H00	H.BETANCOURT	
1	SABADO						
2	DOMINGO						
3	37.0	H6	36.9	H6	37.0	H6	
4	36.9	H6	37.0	H6	36.9	H6	
5	37.0	H6	37.0	H6	36.9	H6	
6	37.0	H6	36.9	H6	37.0	H6	
7	36.9	H6	37.0	H6	37.0	H6	
8	SABADO						
9	DOMINGO						
10	37.0	H6	36.9	H6	36.9	H6	
11	37.0	H6	37.0	H6	37.0	H6	
12	37.0	H6	36.9	H6	37.0	H6	
13	36.9	H6	37.0	H6	37.0	H6	
14	37.0	H6	37.0	H6	37.0	H6	
15	SABADO						
16	DOMINGO						
17	36.9	H6	37.0	H6	37.0	H6	
18	36.9	H6	37.0	H6	37.0	H6	
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							
26							
27							
28							
29							
30							
31							

CORRECCION

1.- Si la Temperatura es ≤ a 36.9°C pedir ayuda a mantenimiento y si es ≥ a 37°C, recalibrar ajuste con perillas de Low y High, hasta estabilizar temperatura adecuada. Si no se corrige pedir chequeo técnico.

Anexo 6: Temperatura Hemoteca

Cruz Roja Ecuatoriana HEMOCENTRO NACIONAL CONTROL DE TEMPERATURAS						Código: F-IFR01-01	
						Versión: 01	

MES:	FEBRERO	AÑO: 2014
------	---------	-----------

EQUIPO	HEMOTECA	REFRIGERACION RANGO DE OPERACIÓN: De 2°C a 6°C	
CODIGO ACTIVOS FIJOS	10056517C20		
UBICACION	RECHEQUEO		
PROCESO	RECHEQUEO		

Dia	Registro de Temperatura (°C)						OBSERVACIONES
	1era. Toma		2da. Toma		3era. Toma		
	Hora	Responsabl	Hora	Responsabl	Hora	Responsabl	
	8H30	H. BETANCOURT	12H00	H. BETANCOURT	16H00	H. BETANCOURT	
1	SABADO						
2	DOMINGO						
3	3-8	CL	4-2	CL	5-2	CL	
4	4-2	CL	5-2	CL	4-8	CL	
5	4-1	CL	6-2	CL	5-1	CL	
6	3-9	CL	4-8	CL	4-7	CL	
7	4-2	CL	5-2	CL	4-6	CL	
8	SABADO						
9	DOMINGO						
10	4-2	CL	4-2	CL	4-9	CL	
11	3-8	CL	6-2	CL	6-1	CL	
12	4-1	CL	5-8	CL	5-9	CL	
13	3-9	CL	4-6	CL	6-1	CL	
14	4-1	CL	4-8	CL	5-6	CL	
15	SABADO						
16	DOMINGO						
17	4-1	M6	4-8	M6	4-3	M6	
18	4-9	M6	4-7	M6	4-8	M6	
19							
20							
21							
22							
23							
24							
25							
26							
27							
28							
29							
30							
31							

CORRECCION
1.- Si la Temperatura llega a 8°C solicitar mantenimiento y detallar en observaciones
2.- Si la Temperatura llega a 1° y/o 9°C retirar los hemocomponentes y almacenar en otro equipo, detallar lo en observaciones

Fecha Revisión: 26-11-2012

Anexo 7: Recolección de muestras (Sección de manguera funda de donación)



Fuente: Base de datos fotográficos del autor de la disertación

Anexo 8: Lavado celular al 3%



Fuente: Base de datos fotográficos del autor de la disertación

Anexo 9: Dispensador de solución salina al 0,9% y serófuga



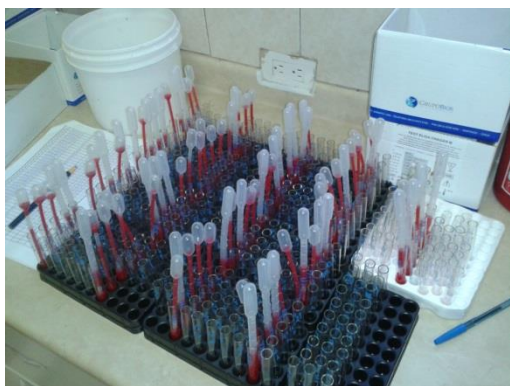
Fuente: Base de datos fotográficos del autor de la disertación

Anexo 10: Reactivo empleado para identificación de subgrupo A1 LectinaDolichusbiflorus



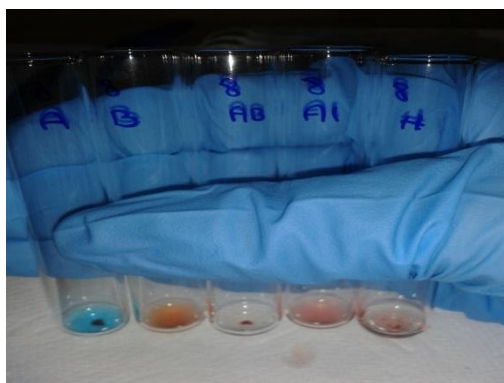
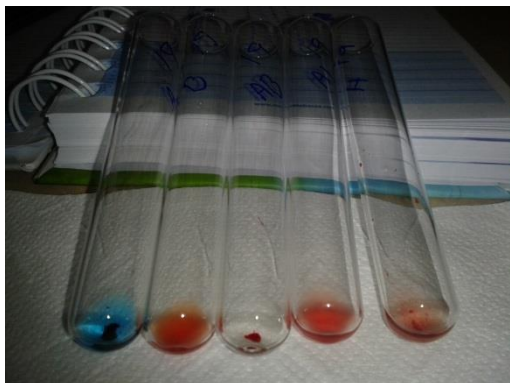
Fuente: Base de datos fotográficos del autor de la disertación

Anexo 11: Técnica en tubo una vez colocado el reactivo añadimos la muestra



Fuente: Base de datos fotográficos del autor de la disertación.

Anexo 12: Visualización del Resultado





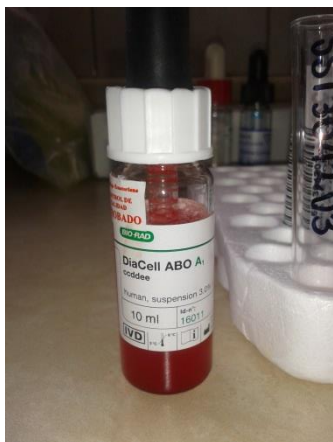
Fuente: Base de datos fotográficos del autor de la disertación

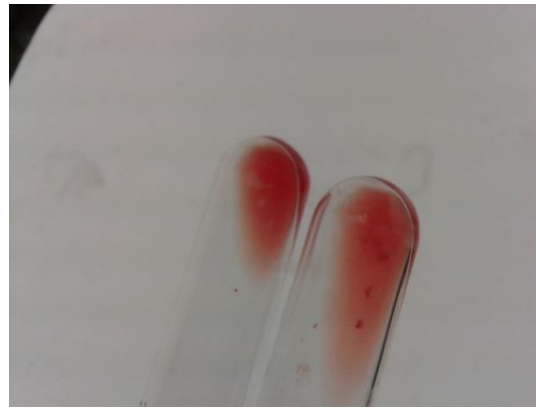
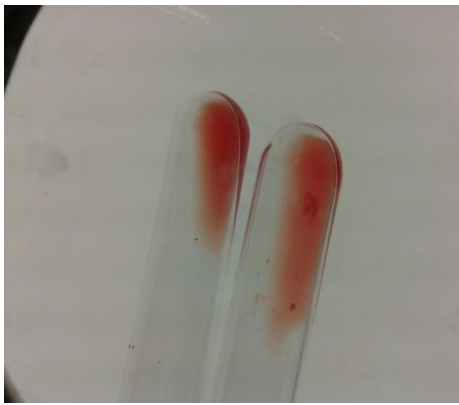
Anexo 13: Grupo inverso Reactivos



Fuente: Base de datos fotográficos del autor de la disertación

Anexo 14: Grupo Inverso y control de calidad células DiaCell ABO





Fuente: Base de datos fotográficos del autor de la disertación

Anexo 15: Procesamiento muestras: Recolección de datos donante en el programa Delfin Hemocentro Nacional

DATOS DEL DONANTE
DEL POZO CAICEDO VICTOR ANIBAL (429174)

Número Donante	429174	Número	1717011110
Tipo documento	CÉDULA		
Tarjeta sanitaria			
Apellidos	DEL POZO CAICEDO		
Nombre	VICTOR ANIBAL	E.Civil	SOLTERO
Fecha nacimiento	02/12/1984	Edad	28
		Sexo	MASCULINO
Dirección	LOMA HERMOSA P.S. Y LT 6		
Población			
Código postal			
Lugar de nacimiento	451	Pichincha-Quito	
Ocupación	130	ESTUDIANTE	
Lugar Trabajo			
Teléfono	5102544	Móvil	0984599526
e-mail	victo25@hotmail.com		
Convocar en	146	UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUITO	
Convocar en			
Donación habitual	VL	VOLUNTARIO	

A+

Última donación 23/05/2013
VOLUNTARIO
Total donaciones: 2
Sangre total: 2 Aféresis: 0
Donaciones 12 meses: 1
Sangre total: 1 Aféresis: 0
Otras donaciones:
Convocado por

DATOS DEL DONANTE
DEL POZO CAICEDO VICTOR ANIBAL (429174)

Número Donante	429174	Número	1717011110
Tipo documento	CÉDULA		
Tarjeta sanitaria			
Apellidos	DEL POZO CAICEDO		
Nombre	VICTOR ANIBAL	E.Civil	SOLTERO
Fecha nacimiento	02/12/1984	Edad	28
		Sexo	MASCULINO
Dirección	LOMA HERMOSA P.S. Y LT 6		
Población			
Código postal			
Lugar de nacimiento	451	Pichincha-Quito	
Ocupación	130	ESTUDIANTE	
Lugar Trabajo			
Teléfono	5102544	Móvil	0984599526
e-mail	victo25@hotmail.com		
Convocar en	146	UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUITO	
Convocar en			
Donación habitual	VL	VOLUNTARIO	

A+

Última donación 23/05/2013
VOLUNTARIO
Total donaciones: 2
Sangre total: 2 Aféresis: 0
Donaciones 12 meses: 1
Sangre total: 1 Aféresis: 0
Otras donaciones:
Convocado por

Fuente: Base de datos fotográficos del autor de la disertación

4.6 BIBLIOGRAFÍA:

- AABB. (2012). Manual Técnico de Asociación de Bancos de Sangre.
- Akkök, Ç. A., Haugaa, H., Galgerud, A., & Brinch, L. (2013). Severe hemolytic transfusion reaction due to anti-A1 following allogeneic stem cell transplantation with minor ABO incompatibility. *Transfusion and Apheresis Science*, 48: 63–66.
- Animal., D. S. (2009). *Inmunología. Curso 2009-10. Tema 13*. Obtenido de www.ucm.es/info/saniani
- Arbeláez, C. A. (2009). Sistema de grupo sanguíneo ABO. *Medicina & Laboratorio, Volumen 15, Números 7-8*, 329 - 349.
- Arce, G. (14 de junio de 2013). 60% de ecuatorianos son sangre O+ . *PPelverdadero*, pág. 1.
- Baez, C. &. (2000). *Grupos Sanguíneos* .
- Bailey-Wilson, J. E. (s.f.). *Define Locus* . National Human Genome Research Institute .
- Baptista-González, H. (2004). Actualidades del sistema Rh-Hr. *Medigraph*, 140(3), S37-40.
- Barón López, F. J., & Téllez Montiel, F. (2004). Capítulo 2: Intervalos de confianza. En F. B. Téllez, *Apuntes de Bioestadística: Tercer ciclo en ciencias de la Salud y Medicina* (págs. 13 - 16). Málaga: MA.
- Begoña Laiz Marro, E. A. (2004). *Administración de sangre y*. Recuperado el 11 de febrero de 2013, de <http://193.145.164.73/publicaciones/documentos/V.4956-2004.pdf#page=225>
- Bencomo-Hernández Antonio A., A.-V. M.-J.-G. (2011). Desarrollo de la Inmunohematología en el Instituto de Hematología e Inmunología. *Revista Cubana*, 27(1)109-118.
- Chaudhary, R., & Sonkar, A. (2004). High titer Immunizing anti- A1 in an A2B patient. Resulting in hemolytic transfusion Reaction. *IND MEDICA*, 1-4.
- Chaudhary, R., & Sonkar, A. (2004). High Titer Immunizing anti-A1 in an A2 B patient resulting in Hemolytic Transfusion Reaction. *Ind Medical*, Vol 12.
- Chen, D.-P., Tseng, C.-P., Wang, W.-T., & Sun, C.-F. (2011). Use of Cell Study Models to Confirm the Weak ABO Phenotypes Caused by Point Mutations Among Taiwanese. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, vol. 41, no. 4, 346 - 352.
- Cruz Roja, E. (2010). *Cruz Roja Ecuatoriana*. Obtenido de www.cruzroja.org.ec
- Cueva O, J. (2010). *CRUZ ROJA ECUATORIANA*. Obtenido de http://www.cruzroja.org.ec/plantilla_texto.php?id_submenu1=1&id_menu=2

- Daniels, G., & Bromilow, I. (2010). Essential Guide to Blood Groups. En G. Daniels, & I. Bromilow, *Essential Guide to Blood Groups* (págs. 219-236). UK: Wiley-Blackwell.
- Deng, A, S., YW, Y., Q, Y., Q, L., YQ, S., . . . H, Z. (2008). Haemolytic disease of fetus and newborn caused by ABO antibodies in a cisAB offspring. *Transfusion and Apheresis Science*, 123-128.
- DiaMed. (marzo de 2011). Cressier s/Morat, Suiza. *Tarjetas ID-Card "DiaClon anti-H" Determinación de Subgrupos A*. Cressier s/Morat, Morat, Suiza: DiaMed AG.
- Dueñas, V. H. (2003). *El Banco de Sangre*. Cali: Universidad del Valle.
- Enciclonet. (2014). *Hemoteca*. Obtenido de <http://www.enciclonet.com/articulo/hemoteca/>
- Eppendorf-ThermoStat-plus. (2010).
- Escamilla Guerrero, G. (2012). MANUAL DE PROCEDIMIENTOS, procedimiento de identificación de los procesos necesarios para el sistema de gestión de calidad. *Banco de sangre Instituto Nacional de Pediatría* , 1-568.
- Fernández, P. (2010). *Determinación del tamaño muestral*. Obtenido de <http://www.fisterra.com/mbe/investiga/9muestras/9muestras2.asp>.
- Fernández, R. A. (2012). Simposio «Seguridad transfusional en el siglo XXI». Introducción y planteamiento del problema. *Gaceta Médica de México*. 2013;149:73-80, 73-80.
- Franco, E. (2003). El control de la calidad de los análisis inmunológicos en la Región de las Américas. *Revista Panamericana de la Salud*, 2: 176-182.
- García Rosascos, M., Lippi, S., & Valverde, J. (2001). Frecuencia de los grupos sanguíneos A1, A2, Aint, B y O en individuos normales. *Rev Cubana Hematol Inmunol*, 17(3):171-4.
- Godínez, L. Z. (2003). Reacciones Transfusionales. *Medigraphic.com Gaceta Médica de México*, 1-4.
- González, J. L. (2005). Anticuerpos irregulares, su importancia en medicina tranfusional. *Revista Médica del IMSS*, 17-20.
- González, R., Bencomo, A., Alfonso, Y., Martínez, M., & Rivero, R. (1998). Fenotipos débiles del Antígeno A (Sistema ABO de grupos sanguíneos) en donantes de sangre. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*, 97-100.
- Gordillo, M. B., & Guzmán, M. d. (2011). Frecuencia del subgrupo sanguíneo A1 en los pacientes que acuden al Banco de Sangre de la Cruz Roja Ecuatoriana, Cuenca-Ecuador 2011. *Tesis*.
- Herdoiza, D. M. (20 de 07 de 2013). Diferimiento de donantes. (K. Parra, Entrevistador)

- Hernández Díaz, P., Bencomo Hernández, A., & Rivero Jimenez, R. (2000). Evaluación de los anticuerpos monoclonales anti-D para la tipificación del sistema Rh(D) / Assessment of antigen-D monoclonal antibodies in the typification of Rh(D) system. *Revista Argentina de transfusión*, 26(2):143-53.
- INEC-EMEDINHO. (2000). Autoidentificación étnico-racial.
- Langston, M. M., Procter, J. L., Cipolone, K. M., & Stroncek, D. F. (2002). Evaluation of the gel system for ABO grouping and D typing. *Transfusion*, 300 - 305.
- Lobato, T., & Nguyen, Q. (2009). Elegibilidad para la donación de sangre: Recomendaciones para la Educación y la Selección de Donantes Potenciales de sangre. *Organización Panamericana de la Salud*, 1 - 113.
- Luberta Lugo, A., Leyva Torres, J. L., & Gallardo Rodriguez, E. (2002). Conservación de las células rojas reactivas en dos soluciones de resuspensión: AS-1 y AS-2. *LABORATORIOS BETERÁ*, 11-21.
- Mark H. Yazer, M. L. (2006). *The cis-AB Blood Group Phenotype: Fundamental Lessons in Glycobiology*. Pittsburgh, PA: The Institute for Transfusion Medicine and Department of Pathology, University of Pittsburgh.
- Martín González, O., Díaz Hernández, P., & García Alonso, L. (2000). Producción de suero anti-D químicamente modificado. *Scielo*, 15-20.
- Martínez Estrada, A. G. (2007). *SPSS FREE*. Obtenido de <http://www.spssfree.com/spss/tablas24.html>
- Matos Bayeau, A. A. (2011). Phases for the implementation of the polycations technique in the Provincial Blood Bank from Santiago de Cuba . *Medisan*, 15(3):287.
- Mautor, D. (2005). Reactivos utilizados en la rutina de banco de sangre. 1.
- Ministerio de Salud Pública. (2001). <http://www.ecomint.com.ec/sanita.htm>. Obtenido de MSP: <http://www.ecomint.com.ec/sanita.htm>
- Moreno, C., Lundblad, A., & Kabet, E. (1971). Immunochemical studies on blood groups Li a comparative study of the reaction of A1 and A2 blood group glycoproteins with human Anti-A. *JEM: J Exp Med*, 439-457.
- Muñiz Dias, E. (2010). Grupos sanguíneos eritrocitarios. En E. Muñiz Días.
- Nickel, C. P. (2005). *Incidence of a Type AB Infant Born to a type O mother*. Grand Island : Science.
- P.O. Hubinont, P. L.-G. (1955). *Hemolytic Disease of the Newborn Due to Anti-A1*. Belguim.

- Paul Warner, T. N. (2006). *ABO-Incompatible Solid-Organ Transplantation*. Pathology Patterns .
- Pedrosa AK, P. F. (20 de junio de 2013). *Blood transfusion reactions in children: associated factors*. Obtenido de J Pediatr (Rio J). pii: S0021-7557(13)00098-3. doi: 10.1016/j.jpmed.2012.12.009. : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23791024>
- Plapp, F. (2008). *Essentials of Transfusion Medicine*. Kansas: Medical Director of ClinLabNavigator.com.
- Polin H, D. M. (2007). Effective molecular RHD typing strategy for blood donations. *Transfusion*, 47: 1350-5.
- Pujol, R. M. (2000). Anticuerpos monoclonales de primera y segunda aplicaciones biomedicas. http://vitae.ucv.ve/pdfs/VITAE_2673.pdf solo disponible en este sitio, 1-16.
- Ramos, D. (2009). *Estudio de grupos sanguíneos y factor RH, en la población de donantes de sangre voluntarios de la provincia de Tungurahua durante el período enero a octubre 2009*. Tungurahua: Universidad Central del Ecuador.
- Reid, M. E., Lomas-Francis, C., & Olsson, M. L. (2012). *The Blood Group Antigen. FactsBook*. San Diego, USA: Elsevier.
- Rojas, E. (2006). *Inmunología*. Mexico: Médica Panamericana S.A.
- Rydberg, L. (2001). *ABO-incompatibility in solid organ transplantation*. Sweden: Transfus Med. 2001 Aug;11(4):325-42.
- Sanquin. (19 de 09 de 2013). *Sanquin*. Obtenido de <http://www.sanquinreagents.com>
- Sassi, M., Maggiore, U., Buzio, C., & Franchini, M. (2010). Immunohaematological and apheretic aspects of the first kidney transplant from a living, ABO-incompatible donor carried out in Italy. *Blood Transfus* 2011;9:218-24 DOI 10.2450/2010.0013-10, 218-224.
- Shamee Shastry, S. B. (2010). Imbalance in A2 and A2B phenotype frequency of ABO group in South India. *Blood Transfus*, 267-270.
- Siegel, D. L. (2001). Pretransfusion compatibility testing. En *Handbook of Transfusion medicine*. San Diego: Elsevier.
- Storry JR, C. L. (2011). International Society of Blood Transfusion Working Party on red cell immunogenetics and Blood. *Vox Sang*, 101:77-82.
- Suramérica, A. A. (2013). *La provisión de sangre segura se fortalece en territorio nacional*. Obtenido de <http://www.andes.info.ec/es/sociedad/provisi%C3%B3n-sangre-segura-fortalece-territorio-nacional.html>

- Swati Kulkarni, V. K. (2013). A simple diagnostic strategy for RhD typing in discrepant cases in the Indian population. *Blood Transfus*, 11: 37-42.
- Termohidrómetro, P. T.-P. (2000).
- Ulloa, A. (2012). Análisis retrospectivo de la frecuencia y tipo de anticuerpos irregulares en donantes voluntarios de sangre en el Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatorina-Quito-2009-2012.
- Valdés, Y. A., & Hernández, A. B. (2001). Procedimientos para la detección e identificación de anticuerpos eritrocitarios. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 3.
- Wilmer. (2006). *Técnica de Aglutinación en Micro Column As en Gel*.
- Yajamin, R. (2004). Criterios técnicos para el uso clínico de sangre y hemocomponentes. *Ministerio de salud pública del Ecuador, Comité Nacional de Sangre*, Quito, MSP, CONAS, OPS.
- Yamamoto, F. (2002). *ABO Blood Group System- Gene locus*. Patenaude et al. *Nature Structural Biology*.
- Yoshida, A., Yamaguchi, H., & Okubo, Y. (1980). *Genetic mechanism of cis-AB inheritance. I. A case associated with unequal chromosomal crossing over*. Recuperado el febrero de 2013, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1686052/>